บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 การเจริญและผลผลิตของเส้นใยกับดอกเห็ดหมื่นปี

3.1.1 การศึกษาเปรียบเทียบชนิดของอาหารเหลวที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเส้นใยและผลผลิตเส้นใยเห็ดหมื่นปี

เมื่อทำการเลี้ยงเส้นใยเห็ดในสภาพนิ่ง (stationary culture) บนอาหารเหลวปริมาณ 100 มล. ในขวดทดลองขนาด 250 มล. เพื่อศึกษาชนิดของอาหารเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเส้นใยโดยใช้อาหารเหลวสูตร PD, YME และ SM (ภาคผนวก ก) ปรับสภาพความเป็นกรด-เบส ให้เท่ากับ 5± 0.2 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28 - 32 $^{o}$ซ.)สภาพที่มีแสงวันละ 8 ชั่วโมง ผลของการวัดน้ำหนักแห้งของเส้นใยตลอดระยะการเจริญเติบโต (45 วัน) พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดที่เลี้ยงบนอาหารเหลว PD มีค่าสูงกว่าน้ำหนักเฉลี่ยของเส้นใยเห็ดที่เลี้ยงบนอาหารเหลว YME และ SM ตามลำดับ (ตารางที่ 3 รูปที่ 8 และ 9) โดยที่ในอาหารสูตร PD และ YME จะใช้ระยะเวลาเข้าสู่การเจริญสูงสุดในเวลาเฉลี่ยเท่ากัน (25 วัน) ในขณะที่สูตร SM จะให้ค่าเจริญสูงสุดในเวลากว่า 45 วัน นอกจากนี้เมื่อเจริญสูงสุดแล้วจะให้ค่ามวลของเส้นใยต่ำกว่า YME ประมาณ 2 เท่าและต่ำกว่า PD เกือบ 3 เท่า สภาพการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบสของอาหารที่ใช้เลี้ยงเส้นใยจะต่ำลงเล็กน้อยเมื่อเส้นใยมีการเจริญเติบโตสูงขึ้น (ตารางที่ 4 และรูปที่ 10) โดยที่ค่าการลดลงของ pH ในอาหาร SM จะมีค่าลดลงมากที่สุด

ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงทำการเลี้ยงเส้นใยเห็ดบนอาหาร PD เพื่อนำไปสกัดหาสารออกฤทธิ์ต่อต้านมะเร็ง ซึ่งจะสังเกตพบว่าการเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดบนอาหาร PD

จะให้เส้นใยเห็ดมีลักษณะสีขาว หนา บางครั้งอาจเกิด zonation ได้ เมื่อเส้นใยเห็ดได้รับแสงสว่างสลับกับช่วงไม่มีแสง เส้นใยจะเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีเหลืองแกมน้ำตาล ภายในเวลา 21- 24 วัน โดยมีการเปลี่ยนแปลงจากศูนย์กลางกระจายไปยังบริเวณรอบ นอกจากนั้นจะสร้างตุ่มเห็ด (primordia) ภายใน 24-27 วัน แต่ไม่สามารถเจริญเป็นดอกเห็ดที่สมบูรณ์ได้ คือจะมีลักษณะเป็นก้านดอกไม่มีการแผ่ขยายออกเป็นดอกเห็ด ตรงปลายก้านจะมีรูคล้ายที่พบที่ผิวด้านล่างของดอกเห็ด แต่ไม่สังเกตพบว่ามีการสร้างสปอร์ ในการวิจัยนี้จึงได้เลือกเก็บผลผลิตของเส้นใยเห็ดหมื่นปีที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร PD ที่อุณหภูมิ 28-31°ซ. ในสภาพที่มีแสง 8 ชม./วัน ประมาณเป็นระยะเวลา 27-30 วัน (late log phase) โดยเฉลี่ยจะได้น้ำหนักเส้นใยแห้งประมาณ 1.05 กรัม ต่ออาหารเลี้ยงปริมาตร 100 มล.

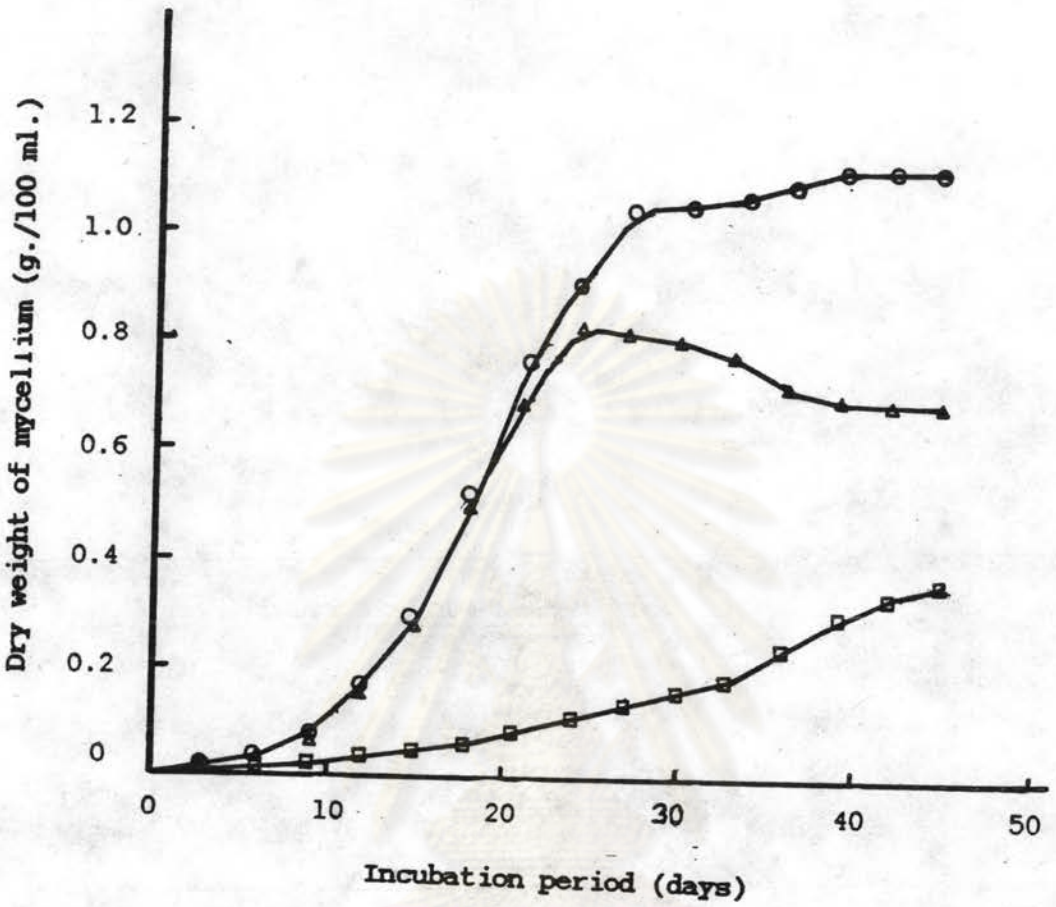
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 น้ำหนักแห้งของเส้นใยเห็ดหลินจือ (*G. lucidum*) ที่เลี้ยงบนอาหารเหลวชนิดต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32 $^{0}$ซ.)

| ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ (วัน) | น้ำหนักเส้นใยแห้ง (กรัม/100 มิลลิลิตร)* | | |
|---|---|---|---|
| | PD | YME | SM |
| 0 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |
| 3 | 0.02 | 0.01 | 0.01 |
| 6 | 0.03 | 0.03 | 0.01 |
| 9 | 0.08 | 0.07 | 0.02 |
| 12 | 0.17 | 0.15 | 0.04 |
| 15 | 0.29 | 0.28 | 0.05 |
| 18 | 0.48 | 0.50 | 0.06 |
| 21 | 0.76 | 0.69 | 0.08 |
| 24 | 0.91 | 0.84 | 0.11 |
| 27 | 1.05 | 0.81 | 0.14 |
| 30 | 1.05 | 0.80 | 0.16 |
| 33 | 1.06 | 0.78 | 0.18 |
| 36 | 1.09 | 0.71 | 0.24 |
| 39 | 1.12 | 0.69 | 0.30 |
| 42 | 1.12 | 0.69 | 0.34 |
| 45 | 1.12 | 0.69 | 0.36 |

* = เฉลี่ยจาก 4 ขวดทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

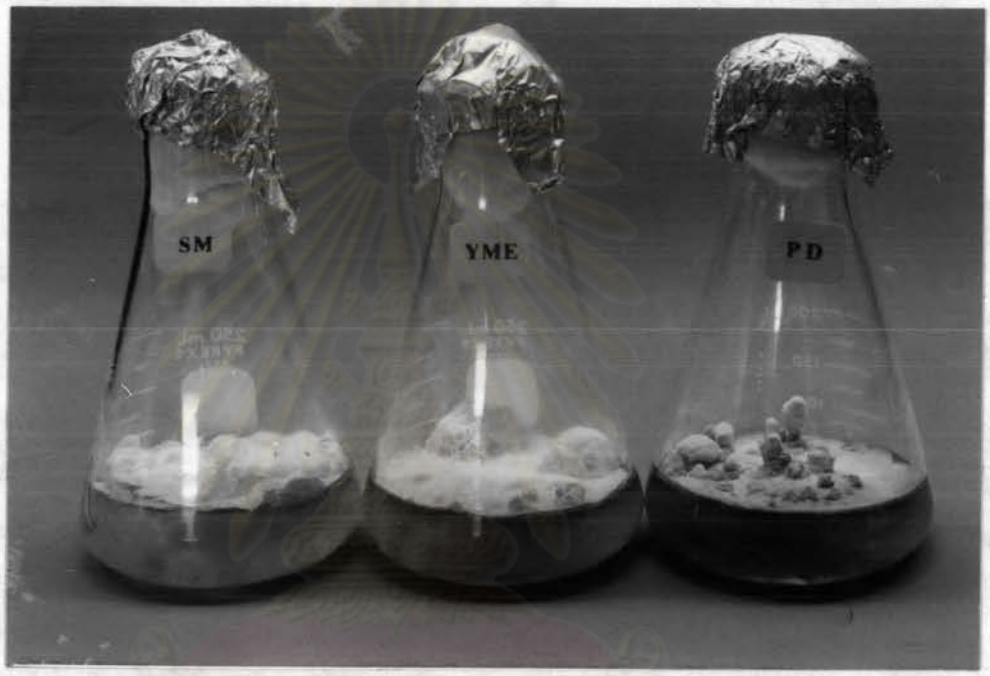



รูปที่ 8 การเจริญเติบโตของเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) บนอาหารเลี้ยงเหลวชนิดต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32 $^{0}$ซ.)

○ = Potato dextrose (PD)

△ = Yeast Malt extract (YME)

□ = Synthetic media (SM)




รูปที่ 9 ลักษณะของเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) บนอาหารเหลวชนิดต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32 $^{0}$ซ.) อายุ 30 วัน

PD = Potato dextrose

YME = Yeast Malt extract

SM = Synthetic media

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

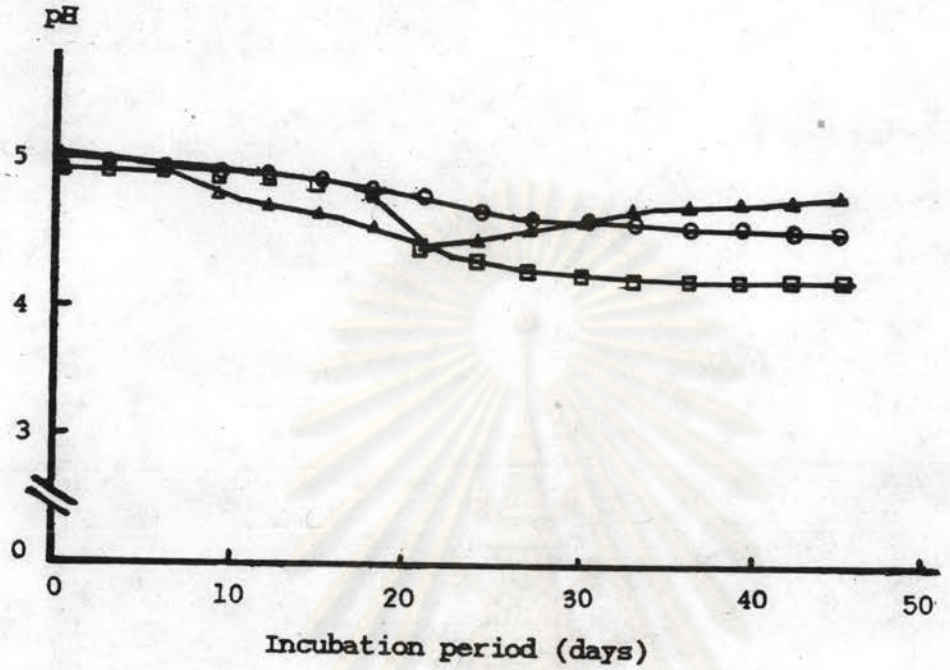
ม.ว.ส.ส. 8605

ตารางที่ 4 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-เบสของอาหารเหลวชนิดต่างๆที่ใช้เลี้ยงเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32$^0$ซ.)

| ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ (วัน) | ความเป็นกรด-เบสของอาหารเหลว* | | |
|---|---|---|---|
| | PD | YME | SM |
| 0 | 5.15 | 5.21 | 5.06 |
| 3 | 5.14 | 5.17 | 5.04 |
| 6 | 5.13 | 5.11 | 5.05 |
| 9 | 5.10 | 4.87 | 5.06 |
| 12 | 5.05 | 4.77 | 5.03 |
| 15 | 5.01 | 4.73 | 5.01 |
| 18 | 4.92 | 4.63 | 4.96 |
| 21 | 4.86 | 4.46 | 4.43 |
| 24 | 4.76 | 4.51 | 4.36 |
| 27 | 4.68 | 4.63 | 4.28 |
| 30 | 4.66 | 4.67 | 4.26 |
| 33 | 4.68 | 4.78 | 4.22 |
| 36 | 4.62 | 4.79 | 4.21 |
| 39 | 4.64 | 4.82 | 4.23 |
| 42 | 4.58 | 4.83 | 4.22 |
| 45 | 4.60 | 4.88 | 4.22 |

* เฉลี่ยจาก 4 ซ้ำของการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 10 การเปลี่ยนแปลงระดับความเป็นกรด-เบสของอาหารเลี้ยงเส้นใยเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) บนอาหารเลี้ยงเหลวชนิดต่างๆ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32 $^{0}$ซ.)

○ = Potato dextrose (PD)

△ = Yeast Malt extract (YME)

□ = Synthetic media (SM)

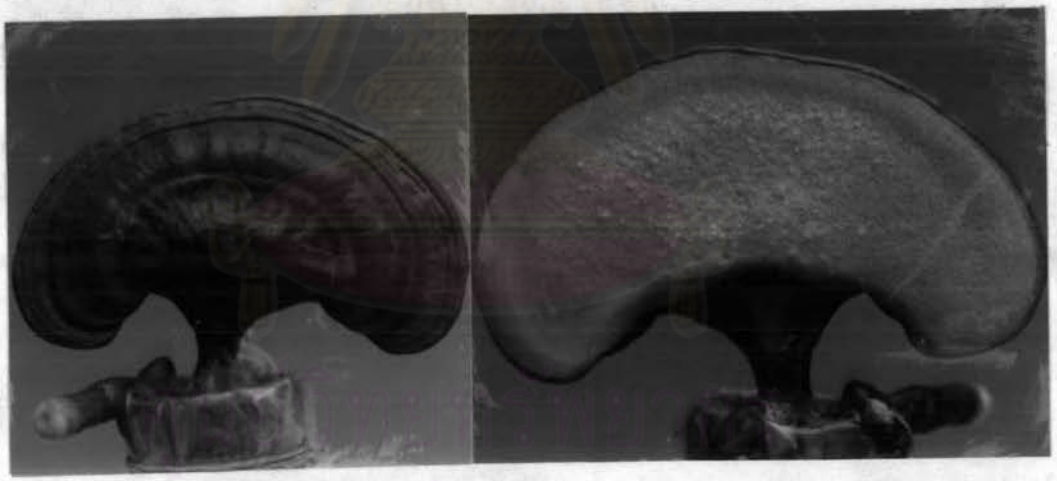
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.1.2 การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดหมื่นปีเพื่อผลิตดอกเห็ดในถุงขี้เลื่อย

เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อเห็ดในวัสดุขี้เลื่อยไม้ยางพาราขนาดบรรจุถุง 600 กรัม พบว่าเส้นใยเห็ดเจริญเติบโตเต็มถุงวัสดุเพาะได้ภายใน 15 วัน หลังจากบ่มเส้นใยต่ออีก 15 วันจะได้เส้นใยที่เจริญเติบโตเต็มที่ คือ เส้นใยจะมีสีขาวเข้มบางส่วนเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ลักษณะเส้นใยหนาขึ้นบางส่วนรวมตัวกันคล้ายแผ่นหนังจากนั้นจึงทำการเปิดดอก เมื่อให้ความชื้นโดยการฉีดน้ำเป็นละอองเช้าเย็นประมาณ 5-7 วัน เส้นใยจะเริ่มสร้างตุ่มเห็ด (primordia) และใช้เวลาอีก 25-30 วัน จึงจะพัฒนาเป็นดอกเห็ดที่เจริญเติบโตเต็มที่ โดยสังเกตจากผิวดอกเห็ดด้านบนมีสีน้ำตาลแดงสม่ำเสมอกันทั่วทั้งดอกและมีการสร้างสปอร์ออกมา (รูปที่ 11) จึงเก็บดอกเห็ด เพื่อนำไปใช้สกัดสารต่อต้านมะเร็งต่อไป น้ำหนักเฉลี่ยของดอกเห็ดสดต่อถุงวัสดุเพาะประมาณ 600 กรัม ในช่วงระยะเวลาของการเก็บเกี่ยว 60 วันจากตัวอย่าง 60 ถุงได้เท่ากับ 26.1 กรัม มีความชื้นของดอกเห็ด 76.5 % มีค่า Biological efficiency (B.E.) เท่ากับ 8.7 %

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

(A)



(B)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 11 ลักษณะดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*)เพาะในถุงวัสดุเพาะ 600 กรัม อายุ 30-45 วัน

A = ถุงก้อนเชื้อในโรงเพาะเห็ดธรรมชาติ หน่วยปฏิบัติการวิจัยเห็ด

B = ลักษณะผิวด้านด้านบนและด้านล่างของดอกเห็ด

3.2 การศึกษาผลผลิตและคุณลักษณะของสารต่อต้านมะเร็งที่สกัดได้จากเห็ดหมื่นปี

3.2.1 การสกัดแยกสารต่อต้านมะเร็งด้วยน้ำร้อนและตกตะกอนด้วยเอธานอล

ในการสกัดแยกสารต่อต้านมะเร็งจากเส้นใยและดอกเห็ด พบว่าสารสกัดที่ได้เมื่อสกัดด้วยน้ำร้อนแล้ว ตกตะกอนด้วย 95% เอธานอลและทำให้แห้งด้วยอะซิโทน (วิธีทดลองข้อที่ 2.4.2.1) ผลการทดลอง (ตารางที่ 5) พบว่าเส้นใยเห็ดจะให้ผลิตภัณฑ์ที่สกัดได้เป็นสารสีน้ำตาลอ่อนส่วนที่ได้จากดอกเห็ดจะได้สารสีน้ำตาลเข้ม ลักษณะเป็นก้อนสามารถบดเป็นผงได้ มีกลิ่นคล้ายน้ำตาลไหม้ และมีรสขม เมื่อวิเคราะห์ผลผลิตของสารออกฤทธิ์จากเส้นใยและดอกเห็ดแห้งพบว่า 100 กรัมของสารตั้งต้น จะได้สารสกัดหยาบ 3.1 และ 2.9 กรัม สำหรับเส้นใยและดอกเห็ดตามลำดับ ผลผลิตที่สกัดได้เมื่อนำไปตรวจสอบหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Lowry's method และหาปริมาณโพลิแซกคาไรด์โดยวิธี Anthrone test สารสกัดหยาบที่ได้จากเส้นใยเห็ดมีโปรตีนประมาณ 6.6% และโพลิแซกคาไรด์ประมาณ 78% ส่วนสารสกัดหยาบที่ได้จากดอกเห็ดมีโปรตีนสูงกว่าคือสูงถึง 18.4% และโพลิแซกคาไรด์ต่ำกว่าสารที่สกัดได้จากเส้นใยคือประมาณ 66.7%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 เปรียบเทียบผลผลิตของสารสกัดจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหิ่นปี *(G. lucidum)* สายพันธุ์ MU220 โดยใช้สารตั้งต้น 100 กรัม

| Material | Crude extract (g.) | Protein(%)* | Polysaccharide(%)** |
|---|---|---|---|
| Fruiting body | 2.9 | 18.4 | 66.7 |
| Mycelium | 3.1 | 6.6 | 78.0 |

* Lowry's method

** Anthrone method

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

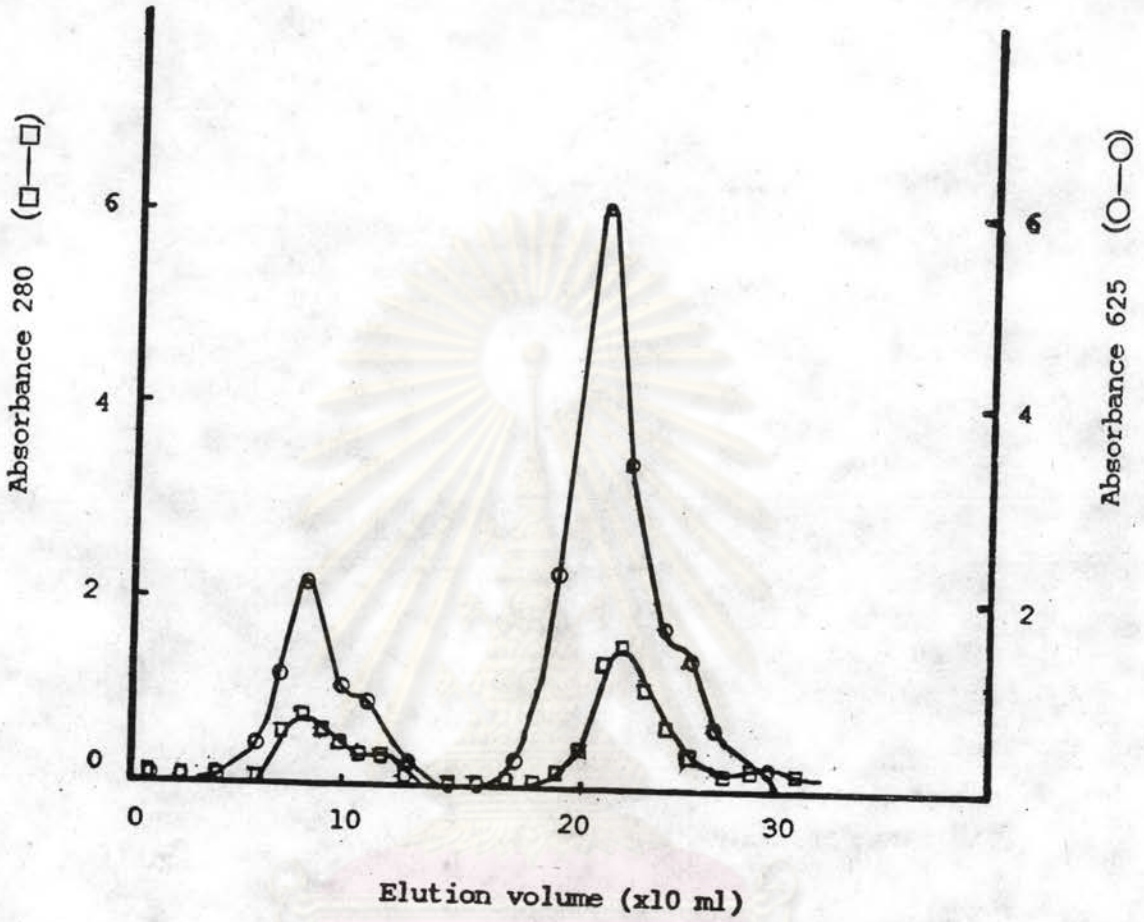
3.2.2 การทำให้สารต่อต้านมะเร็งบริสุทธิ์ด้วยคอลัมม์ ดีอีเออี-เซลลูโลส

เมื่อนำสารสกัดหยาบที่สกัดแยกได้ด้วยน้ำร้อนและตกตะกอนด้วยเอธานอลไปทำการแยกสารประกอบโพลิแซกคาไรด์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟฟีแบบคอลัมม์คือ DEAE-cellulose ซึ่งเมื่อชะด้วยน้ำและเก็บสารที่ออกมาจากคอลัมม์ แฟรกชั่นละ 5 มิลลิลิตร ติดตามค่าการดูดกลืนแสงที่ 625 นาโนเมตร โดยการทำให้เกิดสีด้วย anthrone reagent จนกระทั่งค่าการดูดกลืนแสงลดต่ำลงกว่า 0.05 หน่วย จึงทำการชะด้วยสารละลาย 0.1 M $NaHCO_3$ ด้วยวิธีการเดียวกัน ผลการทดลอง (รูปที่ 12) พบว่าในขั้นตอนการชะด้วยน้ำจะได้พีกของโปรตีนที่ออกมาจากสารตั้งต้นที่สกัดแยกจากเส้นใยเห็ดจะทับกับพีคของสารโพลีแซกคาไรด์ (ที่ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดอยู่ที่แฟรคชั่นที่ 8) ในทำนองเดียวกันพีคของโปรตีนที่ถูกชะออกมาด้วย 0.1 M $NaHCO_3$ ก็จะให้พีคของโปรตีนที่ทับกับพีคของโพลีแซกคาไรด์เช่นกัน

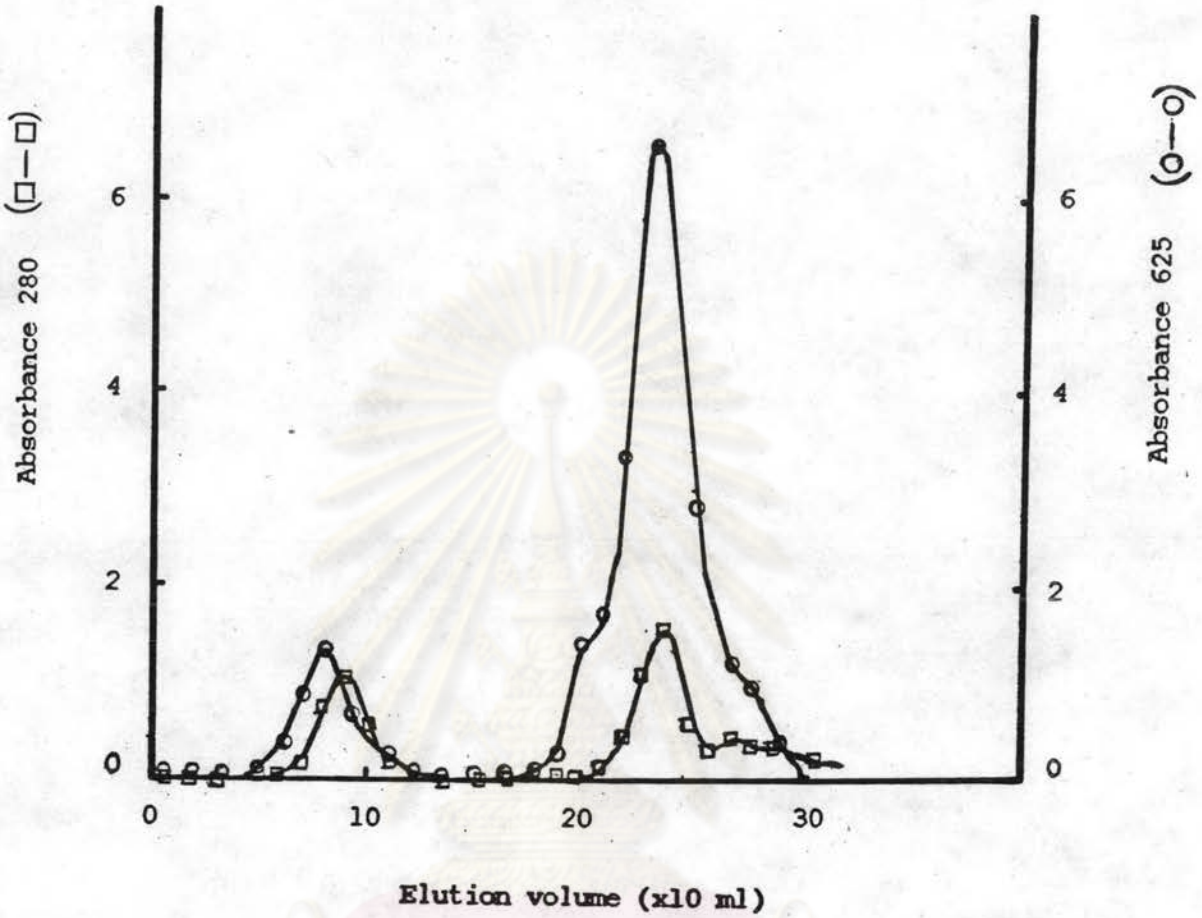
เมื่อรวมแฟรกชั่นที่มีโพลีแซกคาไรด์เข้าด้วยกันนำไประเหยให้เข้มข้นขึ้นแล้วจึงนำไปผ่านคอลัมม์แซฟาเดกซ์ จี-75

ผลการทดลองในรูปที่ 13 แสดงการแยกสารโพลีแซกคาไรด์ที่ได้จากดอกเห็ดด้วยคอลัมม์ DEAE-cellulose ซึ่งก็ให้ผลคล้ายคลึงกันกับที่แยกได้จากเส้นใยเพียงต่างกันที่ค่าโปรตีนที่เลื่อนไปจากค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดเล็กน้อย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 12 รูปแบบการแยกสารต่อต้านมะเร็งจากเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose ขนาด 3x20 ซม. โดยใช้สารเริ่มต้น 0.2 กรัม ไล่ด้วยน้ำและ 0.1 M $NaHCO_3$ ด้วยอัตราการไหล 30 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 5 มล.




รูปที่ 13 รูปแบบการแยกสารต่อต้านมะเร็งจากดอกเห็ดหลินจือ *(G. lucidum)* ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose ขนาด 3x20 ซม. โดยใช้สารเริ่มต้น 0.2 กรัม ไล่ด้วยน้ำและ 0.1 M $NaHCO_3$ ด้วยอัตราการไหล 30 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 5 มล.

3.2.3 การทำให้สารต้านมะเร็งบริสุทธิ์โดยใช้คอลัมม์แซฟาเดกซ์ จี-75

เมื่อนำผลผลิตของเส้นใยและดอกเห็ดที่แยกได้จากคอลัมม์ DEAE-cellulose ไปผ่านคอลัมม์ของแซฟาเดกซ์ จี-75 แล้ว ติดตามค่าการดูดกลืนแสงของโปรตีนที่ 280 นาโนเมตรและของโพลีแซกคาไรด์ด้วยการทำให้เกิดสีด้วย anthrone reagent ติดตามการดูดกลืนแสงที่ 625 นาโนเมตร

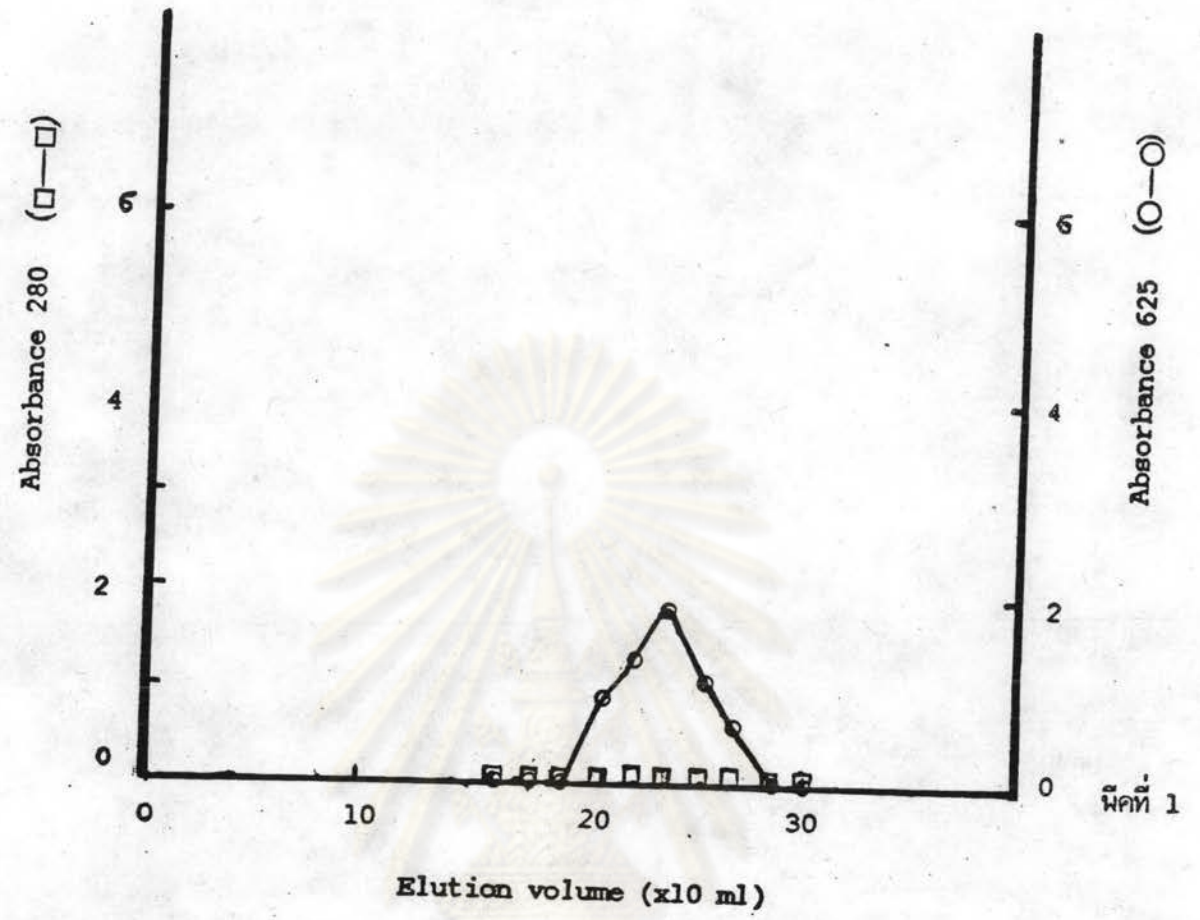
ผลการทดลองในรูปที่ 14 แสดงให้เห็นว่าสารต่อต้านมะเร็งจากเส้นใยเห็ดมีความบริสุทธิ์ขึ้นเพราะเมื่อแยกด้วยแซฟาเดกซ์ จี-75 แล้ว สามารถกำจัดเอาโปรตีนที่ติดมาด้วยออกได้อย่างสมบูรณ์ ซึ่งจะได้ผลผลิตของสารโพลีแซกคาไรด์ที่พีคที่ 1 ประมาณ 12 % พีคที่ 2 ประมาณ 35 %

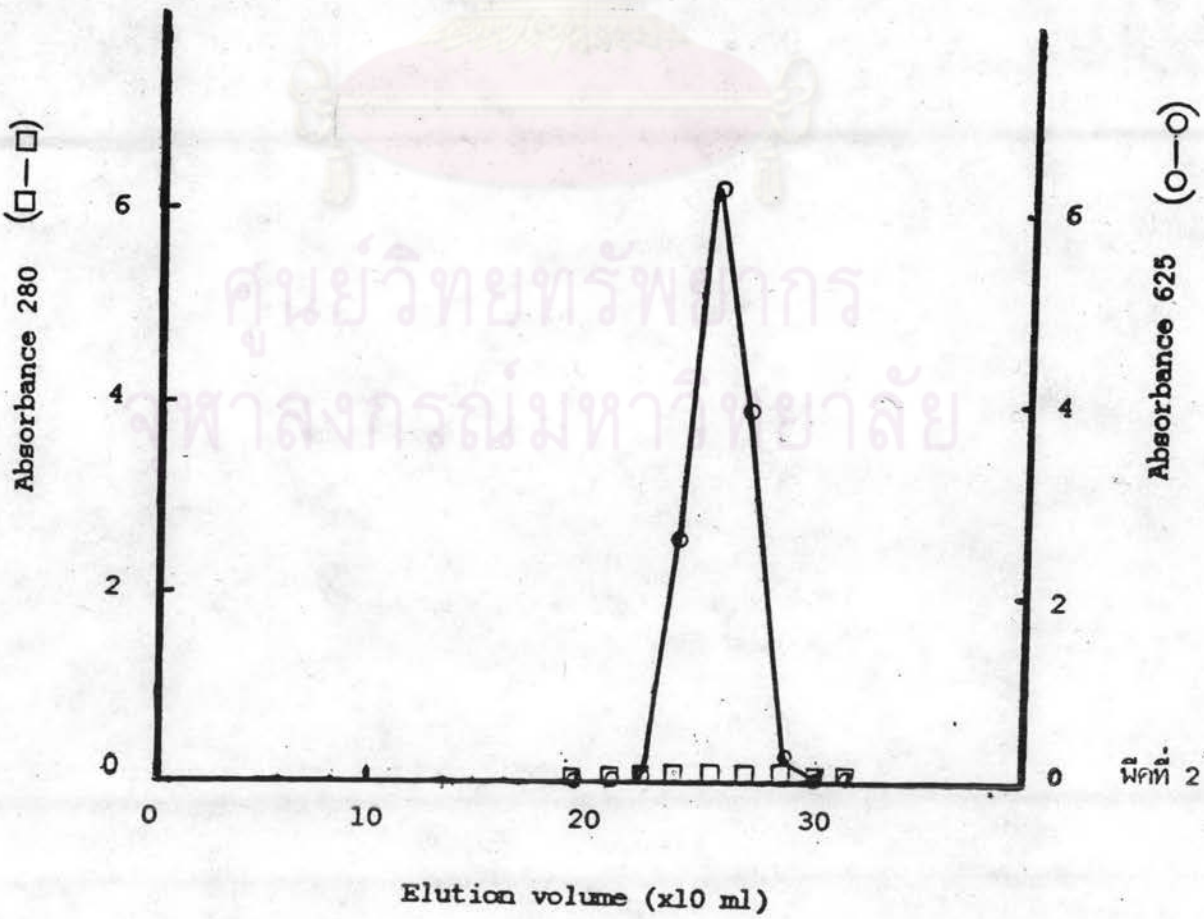
ในทำนองเดียวกันผลการทดลองในรูปที่ 15 แสดงให้เห็นว่าสารต่อต้านมะเร็งจากดอกเห็ดก็ให้ผลเช่นเดียวกันกับที่ได้จากเส้นใย ซึ่งจะได้ผลผลิตสาร โพลีแซกคาไรด์พีคที่ 1 ประมาณ 10.6 % และพีคที่ 2 ประมาณ 37 % (ตารางที่ 6 )

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 14 รูปแบบการแยกสารต่อต้านมะเร็งจากเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 และ 2 ไปผ่านคอลัมน์ Sephadex G-75 ชะด้วยน้ำด้วยอัตราการไหล 15 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 5 มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

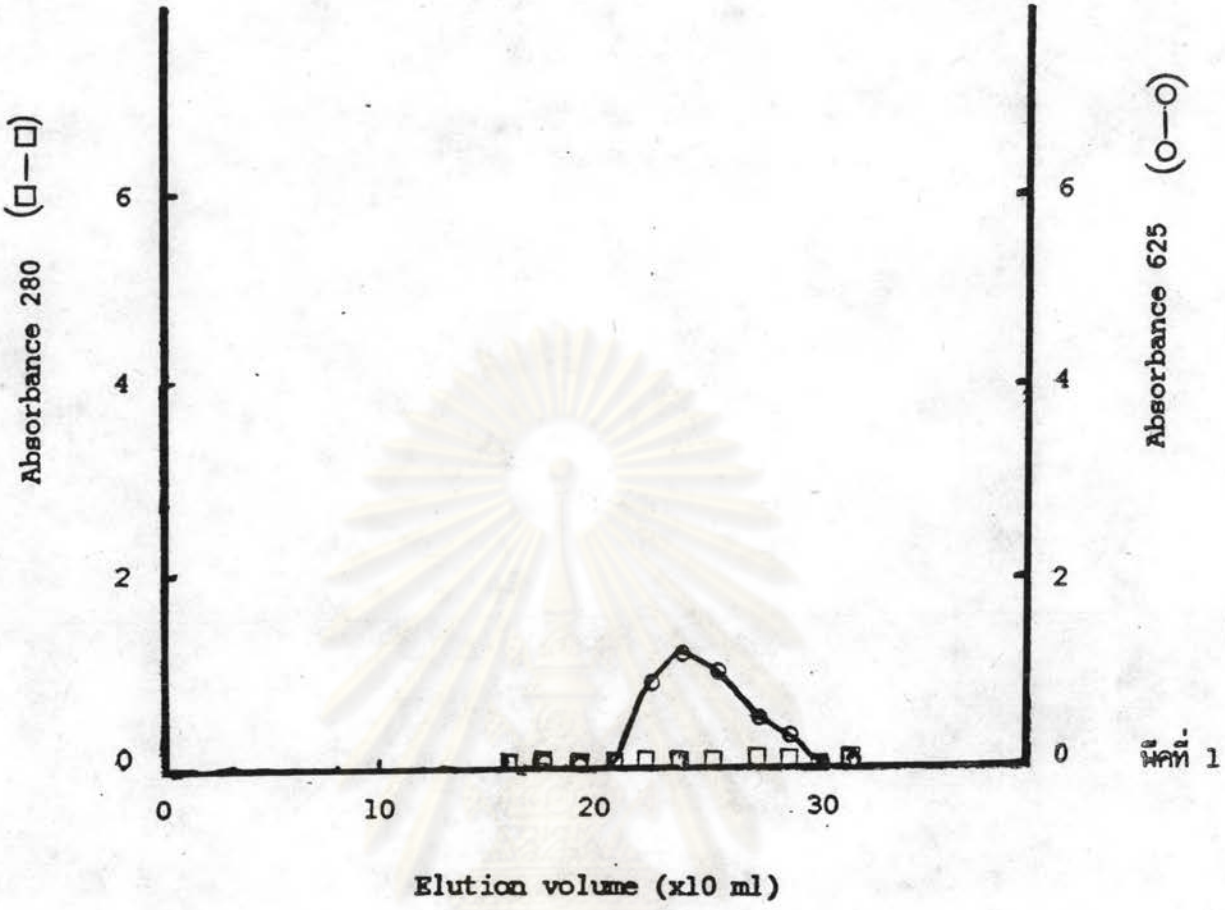


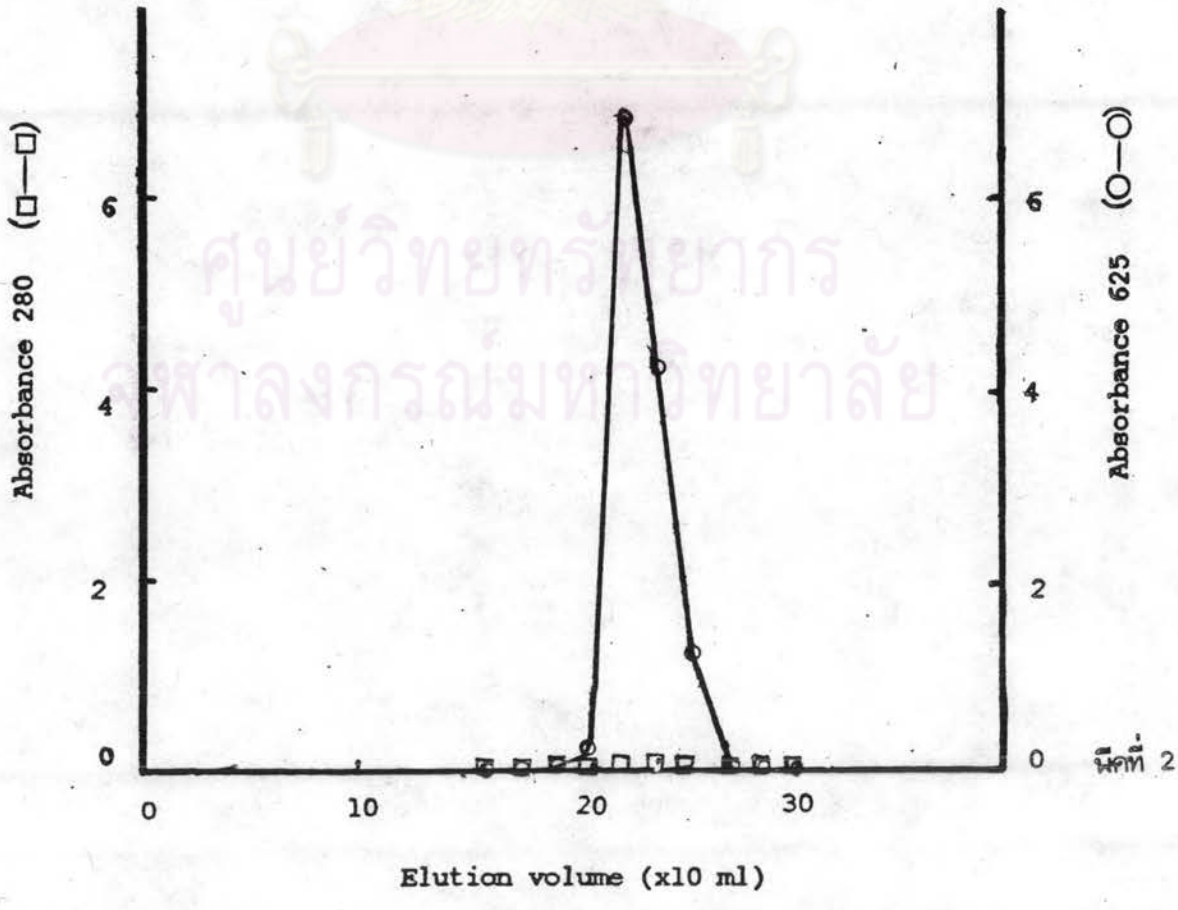

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 15 รูปแบบการแยกสารต่อต้านมะเร็งจากดอกเห็ดหิ้นปี *(G. lucidum)* ที่สกัดแยกด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้คอลัมม์ DEAE-cellulose และนำสารที่เก็บรวบรวมได้จากพีคที่ 1 และ 2 ไปผ่านคอลัมม์ Sephadex G-75 ชะด้วยน้ำด้วยอัตราการไหล 15 มล./ชม. เก็บแฟรกชั่นละ 5 มล.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 1




รูปที่ 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบผลผลิตของสารโพลิแซกคาไรด์ จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* สายพันธุ์ MU220 ที่ได้จากคอลัมน์ ดีอีเออี-เซลลูโลสแล้วนำไปผ่าน คอลัมน์ เซฟาเดกซ์ จี-75 โดยใช้สารตั้งต้น 100 กรัม

| Material | นึ่งที่ 1(กรัม)* | นึ่งที่ 2(กรัม)* |
|---|---|---|
| Fruiting body | 12 | 35 |
| Mycelium | 10.6 | 37 |

* Anthrone method

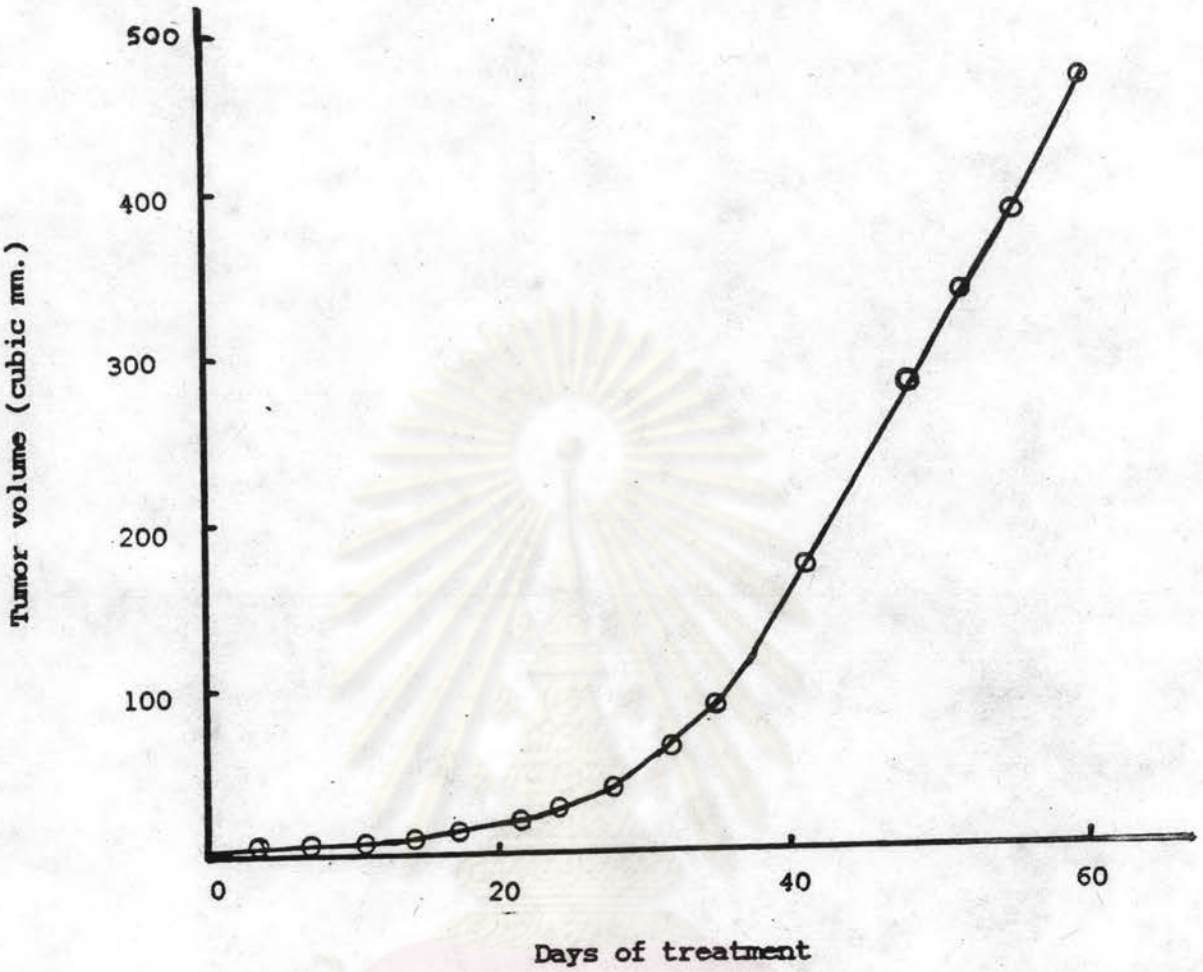
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3 การวิเคราะห์คุณสมบัติของสารต่อต้านการเจริญเติบโตมะเร็ง

ได้ทำการทดลองคุณสมบัติของการต้านมะเร็งของสารสกัดที่แยกได้จากเห็ดหมื่นปีเมื่อใช้เนื้อเยื่อมะเร็งปากมดลูกของคนเป็นแม่แบบ โดยการเพาะเลี้ยงเซลล์มะเร็งที่บริเวณใต้ผิวหนังของหนูไร้ขน (ตามวิธีทดลองที่ 2.4.2.5) จนกระทั่งมีการเจริญของเซลล์อยู่ในระยะการเจริญพหุคูณ ซึ่งโดยปกติจะใช้เวลาอยู่ในช่วงประมาณ 21-35 วัน ซึ่งจะได้ขนาดของเซลล์ที่มีขนาดปริมาตรอยู่ระหว่าง 20-25 ลบ.มม.

ผลการทดลอง (รูปที่ 16) แสดงให้เห็นว่า เซลล์มะเร็งปากมดลูกที่ปลูกถ่ายเข้าสู่หนู จะมีการเจริญเติบโตในระยะต้นช้ามาก แต่หลังจากติดตามการประเมินไปประมาณ 2 สัปดาห์จะเริ่มสังเกตเห็นการเจริญของเนื้อเยื่อและอัตราการเจริญจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 เข้าสู่การเจริญในระยะเริ่มต้นของการเจริญพหุคูณ (early log phase) ที่ระยะเวลานี้จะได้ขนาดของเนื้อเยื่อมะเร็ง (tumor volume) โดยเฉลี่ยประมาณ 20-25 ลบ.มม. ซึ่งเป็นขนาดและระยะการเจริญพอเหมาะที่จะนำไปเป็นแม่แบบทดสอบความสามารถในการออกฤทธิ์ต่อต้านเซลล์มะเร็ง

เมื่อทดสอบความสามารถในการต้านการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อมะเร็งของสารออกฤทธิ์ที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดโดยวิธีการเปรียบเทียบขนาดเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่เริ่มต้นจากเซลล์ขนาด 20-25 ลบ.มม. แล้วฉีดสารสกัดดอกเห็ดละลายน้ำที่มีความเข้มข้นต่างๆกัน ครั้งละ 0.5 มล. /25 กรัม น้ำหนักตัว สำหรับกลุ่มควบคุมฉีดน้ำกลั่นปริมาณเท่ากันในแต่ละครั้งและเวลาเดียวกัน ติดตามวัดการเปลี่ยนแปลงของขนาดเนื้อเยื่อในช่วยระยะเวลาต่างๆ ผลการทดลอง (ตารางที่ 7 และรูปที่ 17) พบว่าเซลมะเร็งปากมดลูกที่เจริญบริเวณใต้ผิวหนังของหนูไร้ขนที่ได้รับเฉพาะน้ำกลั่นจะเจริญเพิ่มขนาดไปในลักษณะของการเจริญแบบพหุคูณ (logarithamic curve) จนกระทั่งครบ 60 วันจะได้เนื้อเยื่อมะเร็งขนาดปริมาตรตั้งแต่ 1000-2000 ลบ.มม. ซึ่งโตกว่าขนาดเริ่มต้นประมาณ 50-100 เท่า ในขณะที่การเจริญของเนื้อเยื่อมะเร็งของหนูกลุ่ม (0.5 มก./กก.น้ำหนักตัว) ซึ่งได้รับการฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหมื่นปีปริมาตร 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว จะเห็นว่าลักษณะการเจริญก็จะเพิ่มขึ้นได้




รูปที่ 16 การเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกที่เลี้ยงในหนูไร้ขน โดยมีขนาดเซลล์เริ่มต้นประมาณ 5 ลบ.มม. เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 60 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*) ) ปริมาณ 0.5 และ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

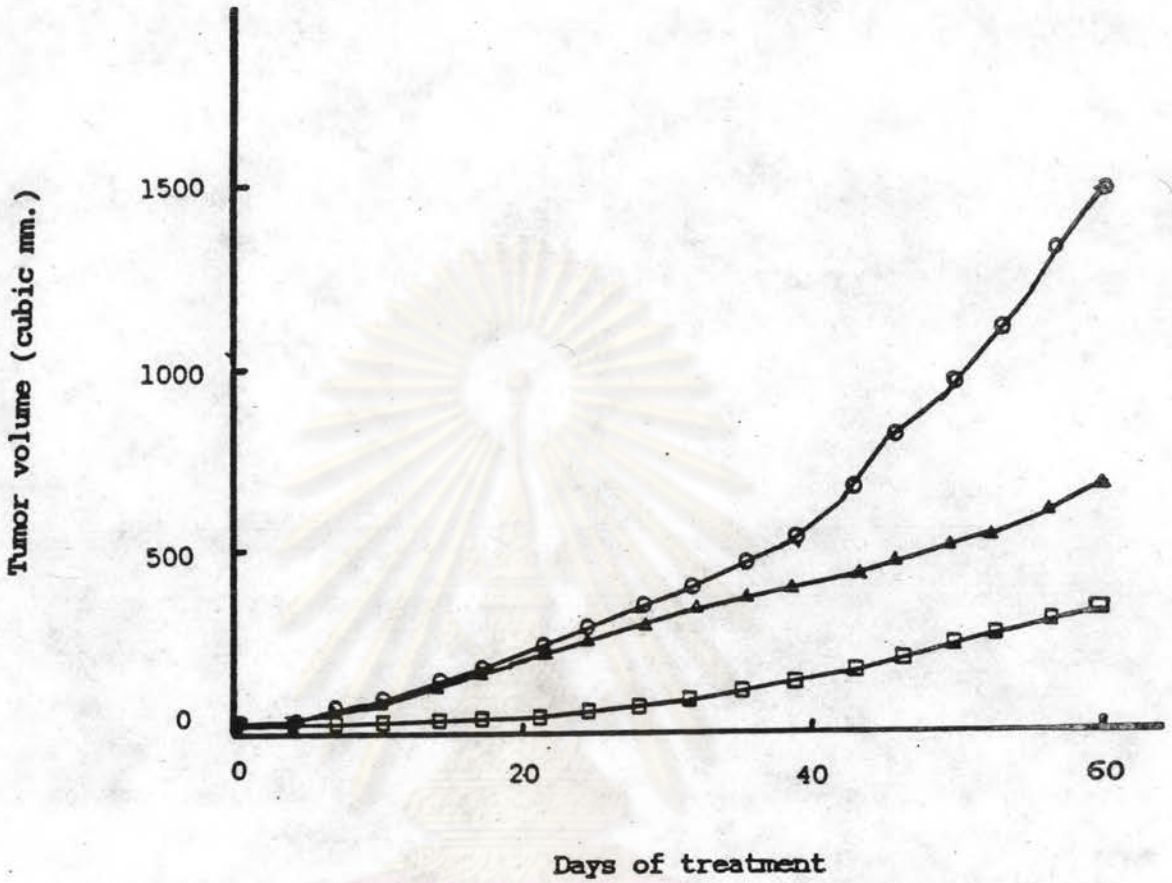
| ระยะเวลา (วัน) | ขนาดมะเร็ง (ล.บ.มิลลิเมตร)* | | |
|---|---|---|---|
| | กลุ่มควบคุม | กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด(กรัม/กก.น้ำหนักตัว)** | |
| | | 0.5 | 2.0 |
| 0 | 25.34 ± 1.67 | 25.34 ± 1.67 | 25.34 ± 1.67 |
| 4 | 36.19 ± 9.72 | 34.57 ± 4.17 | 24.75 ± 1.26 |
| 7 | 57.37 ± 16.58 | 50.21 ± 7.72 | 25.93 ± 1.78 |
| 10 | 85.50 ± 21.22 | 72.95 ± 19.67 | 30.73 ± 4.36 |
| 14 | 124.41 ± 29.49 | 116.04 ± 25.81 | 35.55 ± 5.47 |
| 17 | 168.07 ± 28.55 | 161.57 ± 37.64 | 39.15 ± 6.01 |
| 21 | 234.02 ± 45.46 | 210.20 ± 37.75 | 46.24 ± 5.94 |
| 24 | 279.82 ± 56.50 | 251.60 ± 29.61 | 54.95 ± 9.62 |
| 28 | 332.73 ± 66.07 | 284.92 ± 34.42 | 68.35 ± 12.08 |
| 31 | 379.14 ± 82.99 | 328.42 ± 35.42 | 86.99 ± 9.58 |

| ระยะเวลา (วัน) | ขนาดมะเร็ง (ล.บ.มิลลิเมตร)* | | |
|---|---|---|---|
| | กลุ่มควบคุม | กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด(กรัม/กก.น้ำหนักตัว) ** | |
| | | 0.5 | 2.0 |
| 35 | 454.48 ± 77.54 | 359.52 ± 38.85 | 109.31 ± 19.62 |
| 38 | 498.34 ± 98.28 | 383.56 ± 43.07 | 131.79 ± 32.72 |
| 42 | 612.00 ± 151.88 | 415.46 ± 41.59 | 157.07 ± 34.96 |
| 45 | 820.38 ± 284.51 | 458.11 ± 53.26 | 185.25 ± 42.01 |
| 49 | 894.52 ± 237.32 | 495.34 ± 50.87 | 225.74 ± 47.30 |
| 52 | 1049.68 ± 314.21 | 536.94 ± 62.47 | 262.62 ± 45.66 |
| 56 | 1237.36 ± 346.99 | 583.20 ± 76.45 | 279.99 ± 41.21 |
| 60 | 1444.52 ± 370.98 | 660.32 ± 103.76 | 310.16 ± 53.72 |

* = ค่าเฉลี่ย SD

** = เฉลี่ยจากหนูไร้ขนที่ทำการทดลอง 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 17 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหลินจือ *(G. lucidum)* ปริมาณ 0.5 และ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

○ = กลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว

△ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 0.5 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

□ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

เช่นกัน แต่อัตราการเจริญจะช้ามากกว่าและค่าความแตกต่างของอัตราการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูกในหนูที่ได้รับสารออกฤทธิ์ต้านมะเร็งจะสังเกตเห็นได้ชัดมากขึ้นหลังจากเริ่มต้นการทดลองไปเป็นระยะเวลานานขึ้นโดยเฉพาะช่วงระหว่าง 40-60 วัน จะเห็นการเปลี่ยนแปลงชัดที่สุดและเมื่อให้เซลล์เจริญจนถึง 60 วัน จะพบว่าค่าการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อเซลล์มะเร็งในหนูจะสูงเพียง 500-800 ลบ.มม. ซึ่งสูงกว่าปริมาณของเซลล์มะเร็งเริ่มต้นประมาณ 25-40 เท่าเท่านั้น และขนาดของเนื้อเยื่อมะเร็งนี้จะเล็กกว่าเนื้อเยื่อมะเร็งของกลุ่มควบคุมในระยะเวลาเดียวกันถึง 40-50 เท่า

เมื่อเพิ่มขนาด (dose) ของสารออกฤทธิ์ต้านมะเร็ง (สารสกัดจากดอกเห็ดหิ่นปี) จาก 0.5 เป็น 2 กรัม/กก.น้ำหนักตัว แล้วทำการทดลองฉีดและติดตามการเจริญของเนื้อเยื่อมะเร็งปากมดลูกด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน ผลการทดลองยืนยันให้เห็นอย่างชัดเจนว่าเมื่อเพิ่มขนาดของสารออกฤทธิ์ขึ้นเป็น 4 เท่า การเจริญของเซลล์มะเร็งก็จะลดลงเกือบเป็นสัดส่วนกัน โดยสังเกตดูค่าประมาณของการเจริญของเซลมะเร็งสูงสุด เมื่อปลูกภายใต้ผิวหนังหนูทดลองนานประมาณ 60 วัน จะอยู่ในช่วง ประมาณ 250-400 ลบ.มม. ซึ่งโตกว่าขนาดเซลล์มะเร็งเริ่มต้นประมาณ 12.5 - 20 เท่า เท่านั้น

เมื่อทำการทดลองด้วยวิธีการอย่างเดียวกันกับวิธีดังกล่าวข้างต้นเป็นใช้สารสกัดหยาบจากเส้นใยของเห็ดหิ่นปีที่เพาะเลี้ยง 30 วัน ขนาด 2 กรัม/กก.น้ำหนักตัว ฉีดแทนสารสกัดจากดอกเห็ด จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ดก็สามารถต่อต้านการเจริญของเนื้อเยื่อมะเร็งปากมดลูกได้เช่นกัน ถึงแม้นดูเหมือนว่าจะให้ประสิทธิภาพของการต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งต่ำกว่าสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด (ตารางที่ 8 และรูปที่ 18,19)

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* ) ปริมาณ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

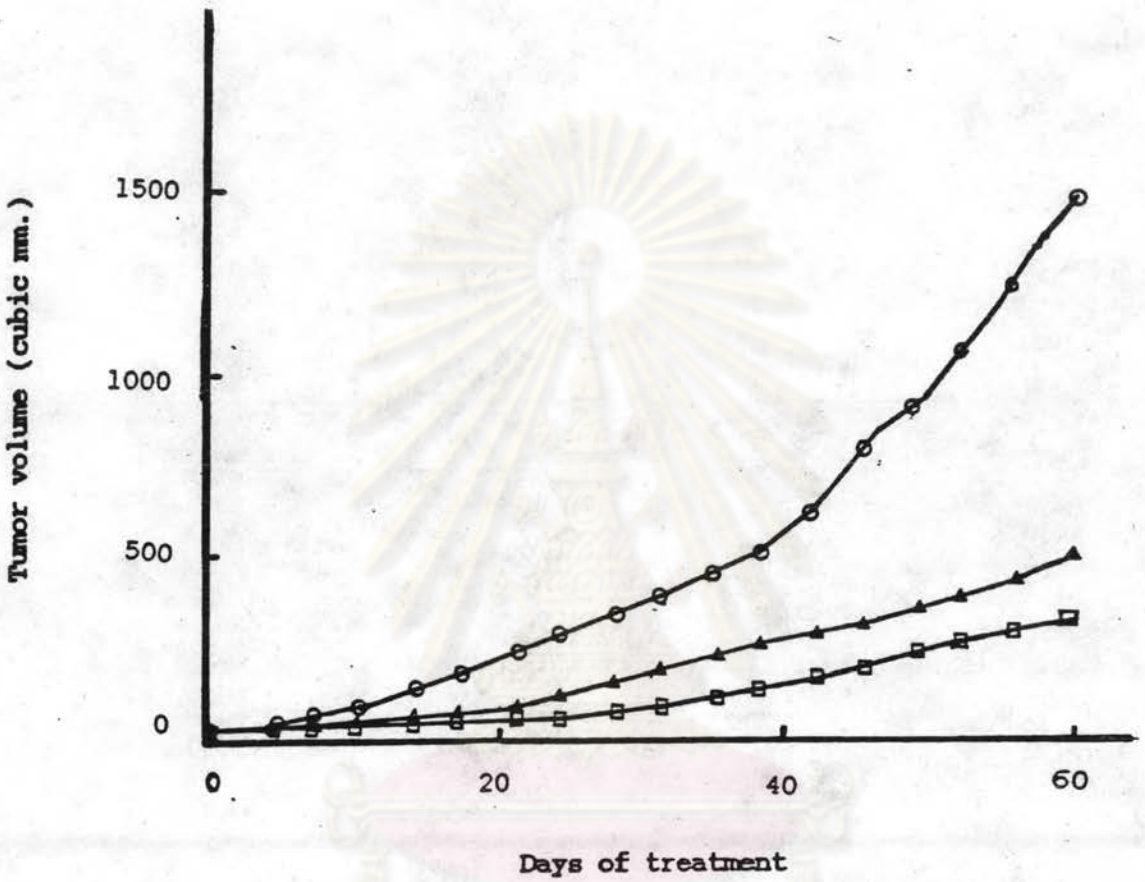
| ระยะเวลา (วัน) | ขนาดมะเร็ง (ล.บ.มิลลิเมตร)* | | |
|---|---|---|---|
| | กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบปริมาณ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว * * | | |
| | กลุ่มควบคุม | ดอกเห็ด | เส้นใย |
| 0 | 25.34 ± 1.67 | 25.34 ± 1.67 | 25.93 ± 1.78 |
| 4 | 36.19 ± 9.72 | 24.75 ± 1.26 | 28.72 ± 2.67 |
| 7 | 57.37 ± 16.58 | 25.93 ± 1.78 | 24.64 ± 3.91 |
| 10 | 85.50 ± 21.22 | 30.73 ± 4.36 | 46.65 ± 7.27 |
| 14 | 124.41 ± 29.49 | 35.55 ± 5.47 | 61.61 ± 12.80 |
| 17 | 168.07 ± 28.55 | 39.15 ± 6.01 | 83.52 ± 21.60 |
| 21 | 234.02 ± 45.46 | 46.24 ± 5.94 | 115.17 ± 34.78 |
| 24 | 279.82 ± 56.50 | 54.95 ± 9.62 | 160.90 ± 44.85 |
| 28 | 332.73 ± 66.07 | 68.35 ± 12.08 | 185.00 ± 53.36 |
| 31 | 379.14 ± 82.99 | 86.99 ± 9.58 | 220.15 ± 69.08 |

| ระยะเวลา (วัน) | ขนาดมะเร็ง (ล.บ.มิลลิเมตร)* | | |
|---|---|---|---|
| | กลุ่มควบคุม | กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบ ปริมาณ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว ** | |
| | | ดอกเห็ด | เส้นใย |
| 35 | 454.48 ± 77.54 | 109.31 ± 19.62 | 220.15 ± 69.08 |
| 38 | 498.34 ± 98.28 | 131.79 ± 32.72 | 252.37 ± 73.91 |
| 42 | 612.00 ± 151.88 | 157.07 ± 34.96 | 286.84 ± 71.61 |
| 45 | 820.38 ± 284.51 | 185.25 ± 42.01 | 305.59 ± 68.27 |
| 49 | 894.52 ± 237.32 | 225.74 ± 47.30 | 345.85 ± 51.88 |
| 52 | 1049.68 ± 314.21 | 262.62 ± 45.66 | 387.36 ± 60.00 |
| 56 | 1237.36 ± 346.99 | 279.99 ± 41.21 | 419.20 ± 58.15 |
| 60 | 1444.52 ± 370.98 | 310.16 ± 53.72 | 480.85 ± 55.88 |

* = ค่าเฉลี่ย SD

** = เฉลี่ยจากหนูไร้ขนที่ทำการทดลอง 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 18 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหิ่นปี *(G. lucidum)* ปริมาณ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

○ = กลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว

□ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

△ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 19 เปรียบเทียบขนาดก้อนมะเร็งที่เจริญในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหิ่นปี (*G. lucidum*) ที่สกัดด้วยน้ำร้อนและตกตะกอนด้วยเอธานอล หลังจากฉีดสารออกฤทธิ์ได้ 45 วัน

C = กลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว ขนาดก้อนมะเร็ง ประมาณ 820 ลบ.มม.

$C_{FB8}$ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 2 กรัม/ก.ก. ขนาดก้อนมะเร็ง ประมาณ 185 ลบ.มม.

$C_{M8}$ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 2 กรัม/ก.ก. ขนาดก้อนมะเร็ง ประมาณ 305 ลบ.มม.

ในทำนองเดียวกัน เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพของการออกฤทธ์ต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งโดยใช้สารซึ่งสกัดแยกได้จากดอกเห็ดและเส้นใยนำไปทำให้บริสุทธิ์เสียก่อนโดยผ่านคอลัมม์ DEAE-cellulose และ sephadex G-75 ผลการทดลอง (ตารางที่ 9 และรูปที่ 20-22) แสดงผลของการออกฤทธ์ต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูกของสารจำพวกโพลีแซกคาไรด์ที่แยกได้พีคที่ 1 และพีคที่ 2 ที่แยกจากดอกเห็ดหมื่นปี และผลการทดลองผลของการออกฤทธิ์ของสารจำพวกโพลิแซกคาไรด์ ที่แยกได้จากเส้นใยเห็ดหมื่นปี

ผลการทดลองยืนยันให้เห็นชัดว่าสารสกัดจากดอกเห็ดและเส้นใยทั้ง 2 กลุ่มที่ทำให้บริสุทธิ์สูงขึ้นโดยกำจัดสารพวกโปรตีนออกไปจนสมบูรณ์ จะมีฤทธิ์ในการต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งปากมดลูกที่เจริญในหนูทดลองได้ และประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทั้ง 2 กลุ่มเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดหยาบเริ่มต้นจะมีค่าสูงกว่า ซึ่งจะเห็นได้ว่าประสิทธิภาพของการออกฤทธิ์ของสารสกัดจากเส้นใยเห็ดหมื่นปีที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วในกลุ่มที่เป็นโพลิแซกคาไรด์กลุ่มที่ 2 จะมีค่าสูงสุด

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* ) และนำไปทำให้บริสุทธิ์เสียก่อนโดยนำไปผ่านคอลัมน์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 ปริมาณ 100 มก./กก. น้ำหนักตัว

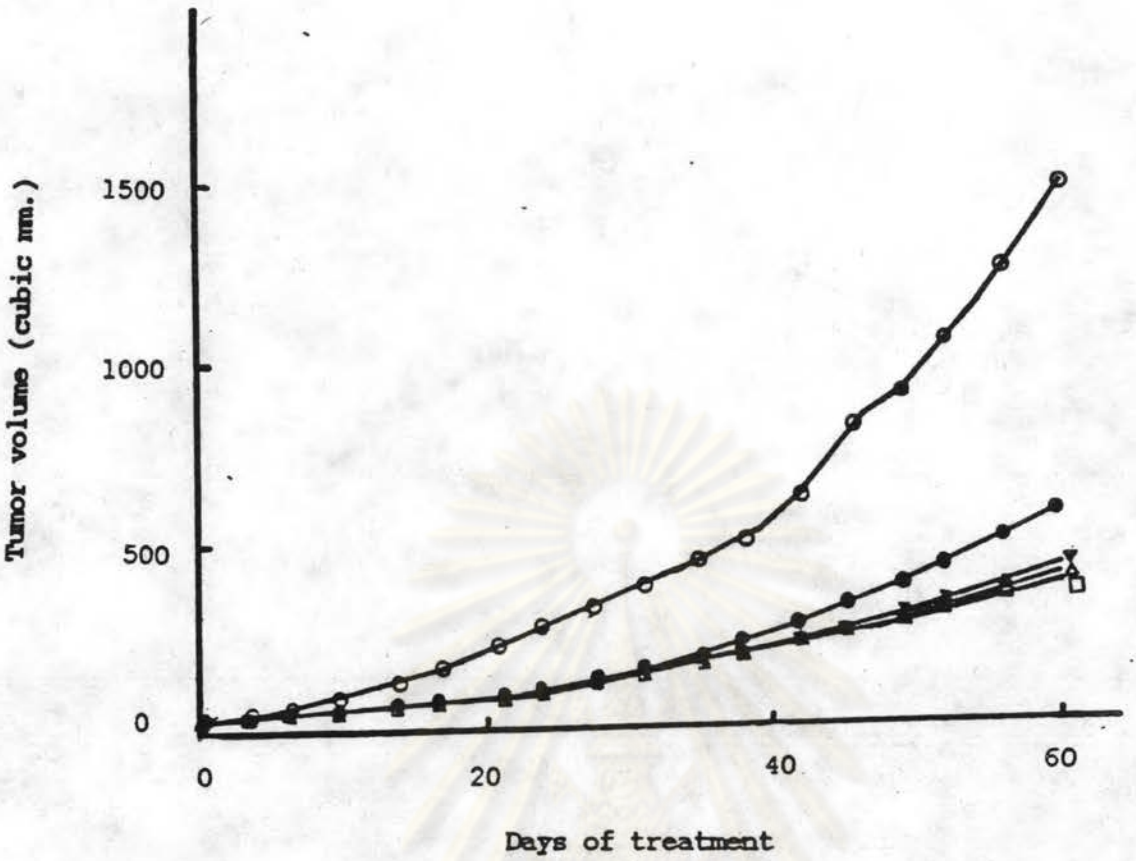
| ระยะเวลา (วัน) | ขนาดมะเร็ง (ล.บ.มิลลิเมตร)* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | กลุ่มควบคุม | ดอกเห็ด | | เส้นใย** | |
| | | พืดที่ 1 | พืดที่ 2 | พืดที่ 1 | พืดที่ 2 |
| 0 | 25.34 ± 1.67 | 25.04 ± 1.22 | 26.22 ± 1.81 | 24.75 ± 1.78 | 25.63 ± 1.51 |
| 4 | 36.19 ± 9.72 | 25.93 ± 1.26 | 27.40 ± 2.50 | 25.93 ± 2.18 | 27.70 ± 2.09 |
| 7 | 57.37 ± 16.58 | 29.06 ± 3.14 | 32.52 ± 3.25 | 29.76 ± 3.55 | 30.96 ± 4.22 |
| 10 | 85.50 ± 21.22 | 38.57 ± 9.46 | 42.69 ± 6.99 | 34.89 ± 4.33 | 38.04 ± 5.91 |
| 14 | 124.41 ± 29.49 | 48.72 ± 11.18 | 56.00 ± 9.72 | 43.98 ± 6.63 | 47.56 ± 7.36 |
| 17 | 168.07 ± 28.55 | 59.94 ± 12.23 | 67.41 ± 12.36 | 57.98 ± 13.11 | 59.57 ± 10.37 |
| 21 | 234.02 ± 45.46 | 74.08 ± 13.93 | 82.60 ± 18.93 | 78.56 ± 15.41 | 73.72 ± 13.31 |
| 24 | 279.82 ± 56.50 | 92.94 ± 24.60 | 97.40 ± 40.85 | 105.50 ± 29.08 | 90.56 ± 19.40 |
| 28 | 332.73 ± 66.07 | 122.06 ± 31.00 | 120.02 ± 34.93 | 129.26 ± 40.53 | 109.77 ± 22.43 |
| 31 | 379.14 ± 82.99 | 152.12 ± 45.86 | 145.56 ± 43.40 | 148.05 ± 41.66 | 137.06 ± 32.87 |

| ระยะเวลา (วัน) | ขนาดมะเร็ง (ล.บ.มิลลิเมตร)* | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | กลุ่มควบคุม | ดอกเห็ด | | เส้นใย** | |
| | | มีคที่ 1 | มีคที่ 2 | มีคที่ 1 | มีคที่ 2 |
| 35 | 454.48 ± 77.54 | 187.46 ± 58.95 | 178.17±45.20 | 173.53±43.26 | 171.67±42.02 |
| 38 | 498.34 ± 98.28 | 228.22 ± 62.01 | 198.82±47.99 | 192.08±41.56 | 199.39±40.80 |
| 42 | 612.00±151.88 | 275.92 ± 69.32 | 225.84±46.86 | 220.01±47.65 | 229.41±47.28 |
| 45 | 820.38±284.51 | 328.09 ± 72.49 | 253.84±49.96 | 240.72±48.80 | 255.87±44.68 |
| 49 | 894.52±237.32 | 431.45 ± 83.60 | 290.10±40.46 | 207.86±43.51 | 292.51±44.51 |
| 52 | 1049.68±314.21 | 431.45 ± 90.82 | 333.49±52.61 | 307.44±41.08 | 329.52±48.49 |
| 56 | 1237.36±346.99 | 504.57±103.47 | 375.04±58.81 | 340.05±42.02 | 361.17±51.58 |
| 60 | 1444.52±370.98 | 566.17±113.17 | 417.38±65.57 | 372.00±42.89 | 394.63±51.86 |

* = ค่าเฉลี่ย SD

** = เฉลี่ยจากหนูไร้ขนที่ทำการทดลอง 8 ตัว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 20 เปรียบเทียบการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* และนำไปทำให้บริสุทธิ์เสียก่อนโดยนำไปผ่านคอลัมน์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 ปริมาณ 100 มก./กก. น้ำหนักตัว

○ = กลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว

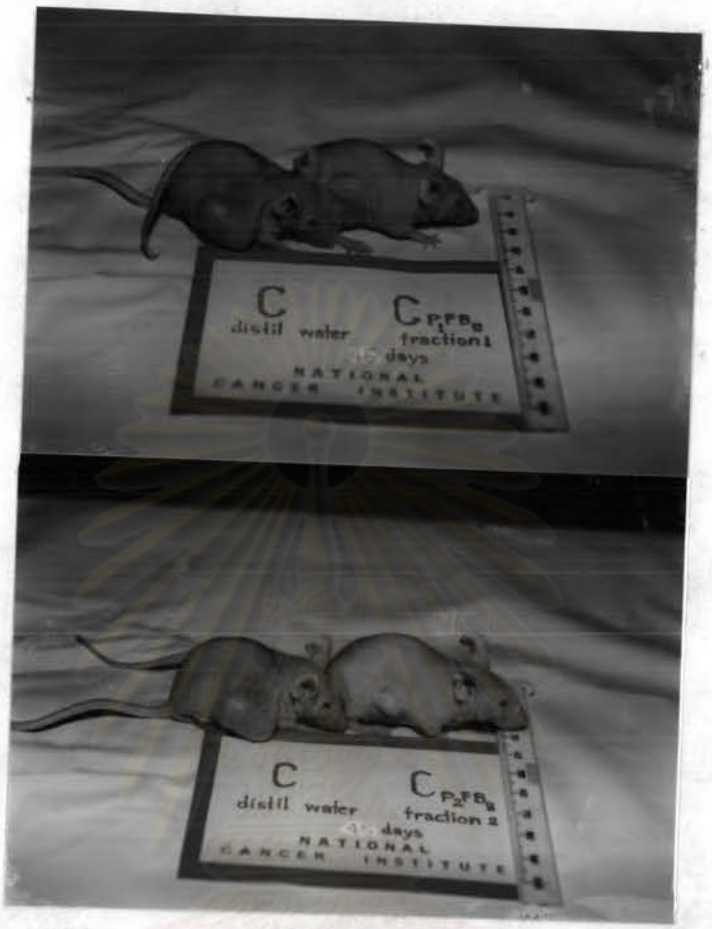
● = กลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดพืชที่ 1

▼ = กลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดพืชที่ 2

□ = กลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากเส้นใยเห็ดพืชที่ 1

△ = กลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากเส้นใยเห็ดพืชที่ 2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

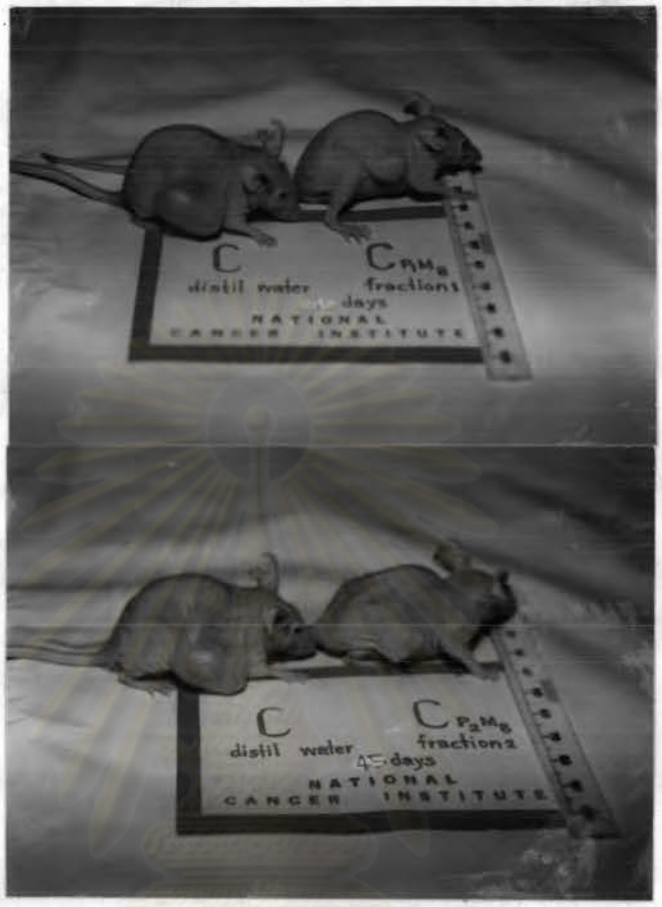



รูปที่ 21 เปรียบเทียบขนาดก้อนมะเร็งที่เจริญในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* ที่ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 หลังจากฉีดสารออกฤทธิ์ได้ 45 วัน

C = กลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว ขนาดก้อนมะเร็ง ประมาณ 820 ลบ.มม.

$C_{P1FB8}$ = กลุ่มที่ฉีดสารโพลิแซกคาไรด์พีคที่ 1 จากดอกเห็ด 0.2 กรัม/ก.ก. ขนาดของก้อนมะเร็ง ประมาณ 328 ลบ.มม.

$C_{P2FB8}$ = กลุ่มที่ฉีดสารโพลิแซกคาไรด์พีคที่ 2 จากดอกเห็ด 0.2 กรัม/ก.ก. ขนาดของก้อนมะเร็ง ประมาณ 253 ลบ.มม.




รูปที่ 22 เปรียบเทียบขนาดก้อนมะเร็งที่เจริญในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากเส้นใยเห็ดหลินจือ *(G. lucidum)* ที่ทำให้บริสุทธิ์ด้วยคอลัมน์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 หลังจากฉีดสารออกฤทธิ์ได้ 45 วัน

C = กลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว ขนาดก้อนมะเร็ง ประมาณ 820 ลบ.มม.

$C_{P1FB8}$ = กลุ่มที่ฉีดสารโพลิแซกคาไรด์พีคที่ 1 จากเส้นใยเห็ด 0.2 กรัม/ก.ก. ขนาดของก้อนมะเร็ง ประมาณ 240 ลบ.มม.

$C_{P2FB8}$ = กลุ่มที่ฉีดสารโพลิแซกคาไรด์พีคที่ 2 จากเส้นใยเห็ด 0.2 กรัม/ก.ก. ขนาดของก้อนมะเร็ง ประมาณ 255 ลบ.มม.

เมื่อนำผลการทดลองมาคำนวณเป็นเปอร์เซนต์ค่าการเปลี่ยนแปลงของขนาดปริมาณของเนื้อเยื่อมะเร็งเมื่อได้รับการฉีดสารออกฤทธิ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของขนาดเนื้อเยื่อมะเร็งของกลุ่มควบคุม (%T/C) ก็ยังคงให้ผลการออกฤทธิ์ของสารสกัดหยาบและสารโพลิแซกคาไรด์ได้ดีเช่นเดียวกัน เมื่อทำการเปรียบเทียบผลการทดลองของหนูกลุ่ม ซึ่งฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดปริมาณ 0.5 และ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว พบว่ากลุ่มที่ฉีดสารสกัดปริมาณ 0.5 กรัม/กก.น้ำหนักตัว จะแสดงให้เห็นผลความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง (%T/C < 75%) เมื่อทำการทดลองไปได้ 42 วัน ในขณะที่กลุ่มที่ฉีดสารสกัดปริมาณ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัวจะให้ค่าค่า %T/C < 75% ที่เวลาสั้นกว่ากันมากคือใช้เวลาเพียง 4 วันเท่านั้น (ตารางที่ 10 และรูปที่ 23) จากผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นชัดเจนว่าการได้รับปริมาณของสารสกัดหยาบที่แยกได้จากดอกเห็ดที่ฉีดให้แก่หนูมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง

เมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบฤทธิ์ในการต่อต้านการเจริญของเนื้อเยื่อมะเร็งระหว่างหนูกลุ่มซึ่งฉีดสารสกัดหยาบปริมาณ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว จากดอกเห็ดและเส้นใยก็ได้ผลการทดลองเช่นเดียวกันว่าสารสกัดหยาบจากเนื้อเยื่อเห็ดทั้ง 2 ชนิด มีฤทธิ์ต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งอย่างชัดเจน ถึงแม้นดูเหมือนว่าสารสกัดหยาบจากเส้นใยจะให้ผลการต่อต้านมะเร็งที่ต่ำกว่าบ้างเล็กน้อย (ตารางที่ 11 และรูปที่ 24)

ในทำนองเดียวกัน เมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการออกฤทธิ์ต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็ง โดยฉีดสารมารสกัดแยกได้จากดอกเห็ดและเส้นใยที่ทำให้บริสุทธิ์เสียก่อนโดยนำไปผ่าน คอลัมม์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 ผลการทดลอง (ตารางที่ 12 และรูปที่ 25) แสดงผลการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ใกล้เคียงกัน แต่สูงกว่าค่าที่ใช้สารสกัดหยาบจากดอกและเส้นใยเห็ด ซึ่งแสดงให้เห็นชัดเจนว่าสารสกัดจากดอกเห็ดและเส้นใยทั้ง 2 กลุ่มที่ทำให้บริสุทธิ์ขึ้นโดยกำจัดสารพวกโปรตีนออกไปจนสมบูรณ์จะมีฤทธิ์ในการต่อต้านการเจริญของเซลล์มะเร็งได้ดีขึ้น

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* ปริมาณ 0.5 และ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

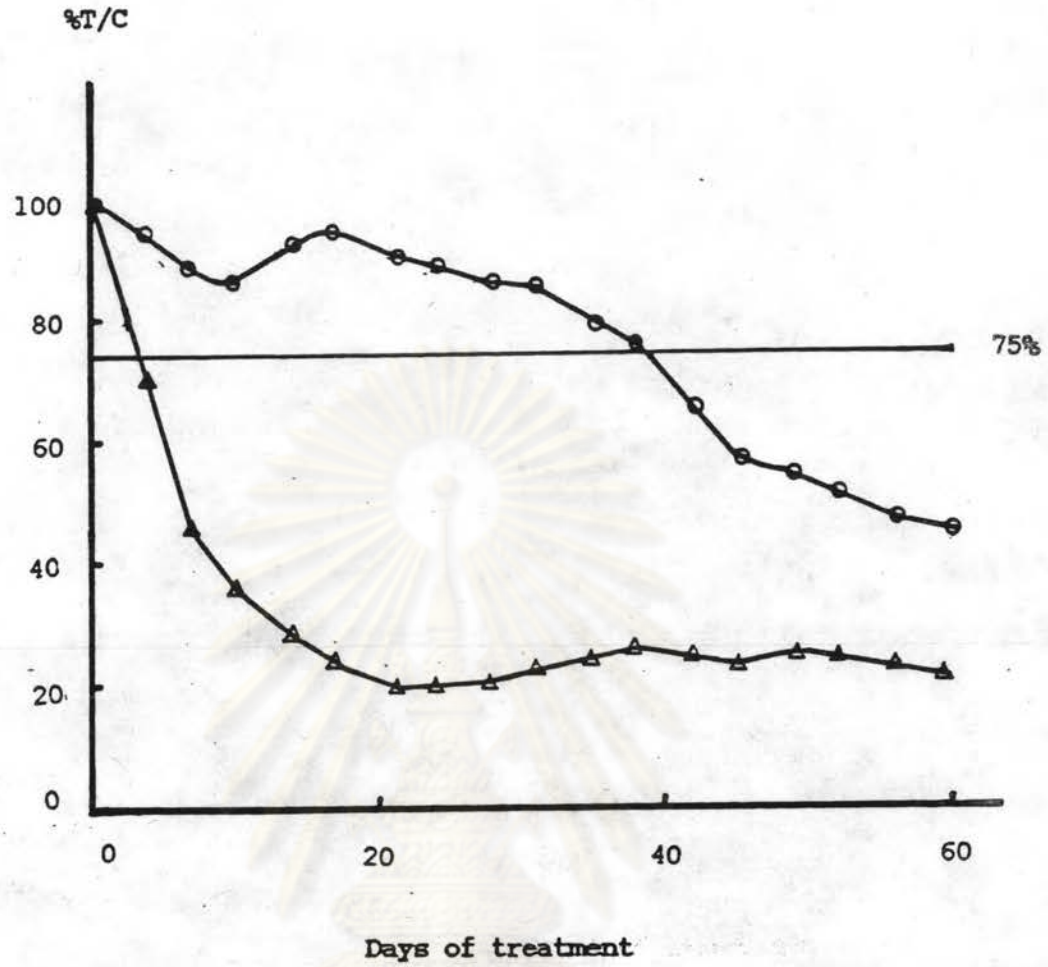
| ระยะเวลา | % T/C* | |
|---|---|---|
| (วัน) | กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด(กรัม/กก.น้ำหนักตัว) | |
| | 0.5 | 2.0 |
| 0 | 100.00 | 100.00 |
| 4 | 95.10 | 68.53 |
| 7 | 87.61 | 45.13 |
| 10 | 85.46 | 35.90 |
| 14 | 93.28 | 28.51 |
| 17 | 96.23 | 23.23 |
| 21 | 89.81 | 19.78 |
| 24 | 89.94 | 19.65 |
| 28 | 85.60 | 20.56 |
| 31 | 86.63 | 22.92 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| ระยะเวลา | % T/C* | |
|---|---|---|
| (วัน) | กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด(กรัม/กก.น้ำหนักตัว)** | |
| | 0.5 | 2.0 |
| 35 | 79.14 | 24.04 |
| 38 | 76.97 | 26.44 |
| 42 | 65.19 | 24.66 |
| 45 | 55.85 | 22.58 |
| 49 | 55.38 | 25.24 |
| 52 | 51.16 | 25.01 |
| 56 | 47.12 | 22.63 |
| 60 | 45.72 | 21.47 |

* = %T/C ต้องเท่ากับหรือต่ำกว่า 75% จึงจะถือได้ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 23 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* ปริมาณ 0.5 และ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

○ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 0.5 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

△ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* ปริมาณ 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

| ระยะเวลา | % T/C* | |
|---|---|---|
| (วัน) | กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากเห็ด(กรัม/กก.น้ำหนักตัว) | |
| | ดอกเห็ด | เส้นใย |
| 0 | 100.00 | 100.00 |
| 4 | 68.53 | 77.62 |
| 7 | 45.13 | 58.85 |
| 10 | 35.90 | 45.10 |
| 14 | 28.51 | 36.66 |
| 17 | 23.23 | 35.90 |
| 21 | 19.78 | 34.89 |
| 24 | 19.65 | 40.22 |
| 28 | 20.56 | 47.33 |
| 31 | 22.92 | 47.66 |

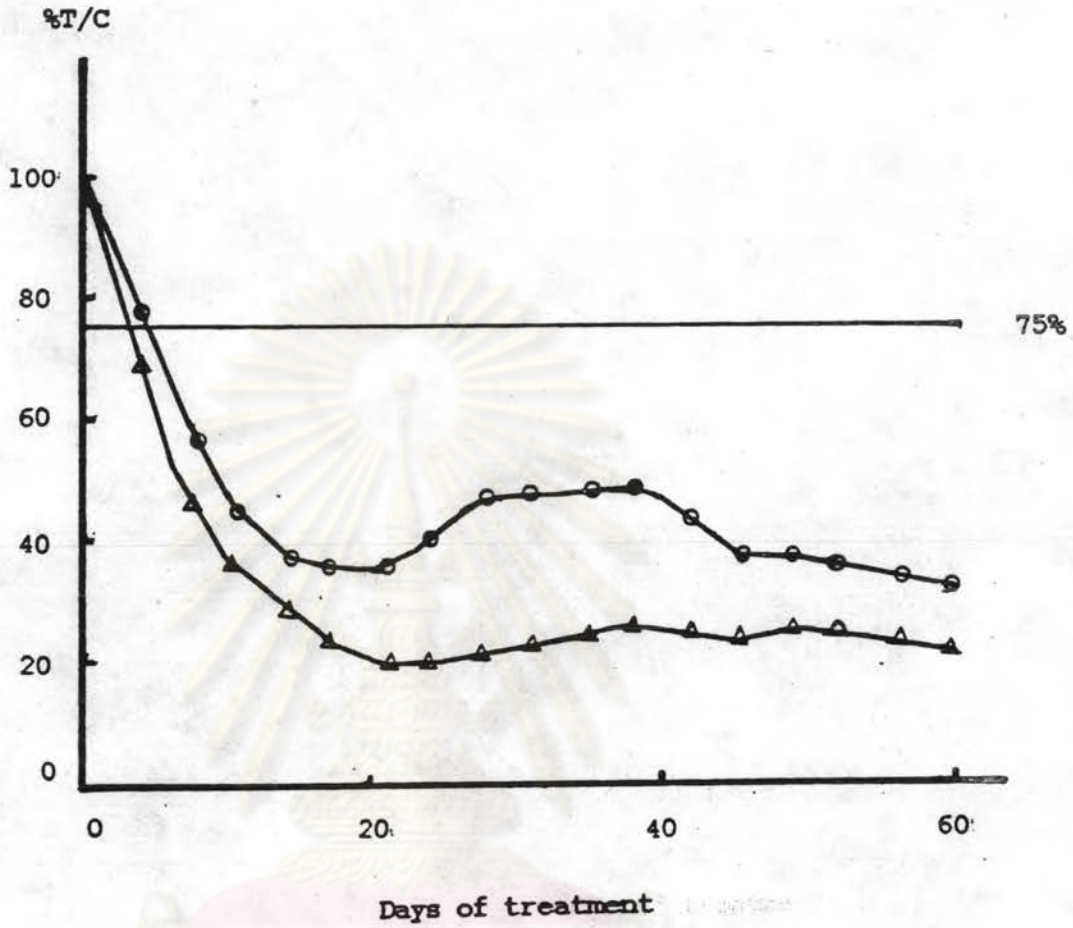
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| ระยะเวลา | % T/C* | |
|---|---|---|
| (วัน) | กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากเห็ด(กรัม/กก.น้ำหนักตัว) | |
| | ดอกเห็ด | เส้นใย |
| 35 | 24.04 | 47.35 |
| 38 | 26.44 | 49.47 |
| 42 | 24.66 | 43.99 |
| 45 | 22.58 | 36.39 |
| 49 | 25.24 | 37.79 |
| 52 | 25.01 | 36.07 |
| 56 | 22.63 | 33.11 |
| 60 | 21.47 | 32.53 |

* = %T/C ต้องเท่ากับหรือต่ำกว่า 75% จึงจะถือได้ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 24 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* 2.0 กรัม/กก. น้ำหนักตัว

△ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

○ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนูไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)* และนำไปทำโดยนำไปผ่านคอลัมน์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 ปริมาณ 100 มก./กก.น้ำหนักตัว

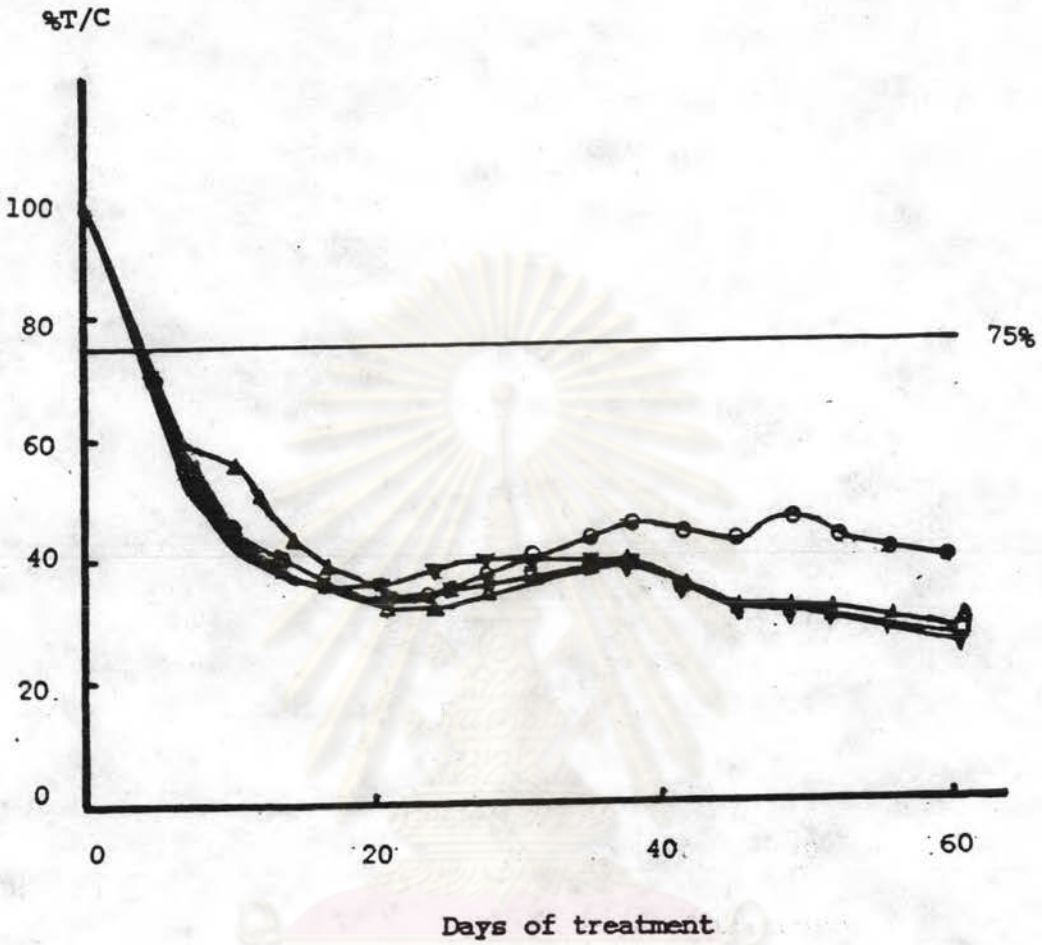
| ระยะเวลา (วัน) | % T/C* | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ดอกเห็ด | | เส้นใย | |
| | พืดที่ 1 | พืดที่ 2 | พืดที่ 1 | พืดที่ 2 |
| 0 | 100.00 | 100.00 | 100.00 | 100.00 |
| 4 | 72.03 | 72.73 | 73.43 | 75.52 |
| 7 | 51.33 | 54.87 | 53.10 | 53.54 |
| 10 | 45.70 | 59.64 | 41.84 | 43.92 |
| 14 | 39.51 | 43.38 | 36.25 | 37.68 |
| 17 | 36.05 | 38.76 | 35.29 | 34.99 |
| 21 | 31.96 | 34.13 | 34.34 | 31.20 |
| 24 | 33.60 | 33.60 | 38.59 | 31.36 |
| 28 | 37.09 | 34.88 | 39.76 | 32.60 |
| 31 | 40.57 | 37.10 | 39.97 | 35.76 |

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

| ระยะเวลา (วัน) | % T/C* | | | |
|---|---|---|---|---|
| | ดอกเห็ด | | เส้นใย | |
| | พืดที่ 1 | พืดที่ 2 | พืดที่ 1 | พืดที่ 2 |
| 35 | 41.77 | 37.87 | 39.10 | 37.37 |
| 38 | 46.31 | 38.53 | 39.45 | 40.01 |
| 42 | 43.83 | 34.90 | 35.36 | 35.60 |
| 45 | 40.47 | 29.94 | 30.06 | 30.83 |
| 49 | 48.81 | 31.33 | 30.99 | 32.32 |
| 52 | 41.61 | 31.77 | 29.98 | 31.05 |
| 56 | 41.26 | 29.28 | 28.14 | 28.85 |
| 60 | 39.67 | 27.93 | 26.37 | 27.02 |

* = %T/C ต้องเท่ากับหรือต่ำกว่า 75% จึงจะถือได้ว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งได้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




รูปที่ 25 เปรียบเทียบความสัมพันธ์ (%T/C) ของการเจริญของก้อนมะเร็งปากมดลูกในหนู ไร้ขนกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดและเส้นใยเห็ดหิ้นปี *(G. lucidum)* และนำไปทำให้บริสุทธิ์เสียก่อนโดยนำไปผ่านคอลัมน์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-75 ปริมาณ 100 มก./กก.น้ำหนักตัว

○ = กลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดพืดที่ 1

△ = กลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากดอกเห็ดพืดที่ 2

▼ = กลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากเส้นใยเห็ดพืดที่ 1

□ = กลุ่มที่ฉีดสารที่สกัดแยกได้จากเส้นใยเห็ดพืดที่ 2

3.4 ของการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวของหนูทดลองในขณะได้รับการปลูกถ่ายเชื้อเซลล์มะเร็ง

เมื่อติดตามเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางสรีระ และความปกติของหนูทดลองที่ได้รับเซลล์มะเร็งและเจริญตลอดการทดลอง ได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหนูทดลองในกลุ่มต่างๆรวมทั้งกลุ่มควบคุม

ค่าเฉลี่ยของการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวหนูในกลุ่มต่างๆในขณะที่ได้การปลูกถ่ายเชื้อเซลล์มะเร็งจะมีน้ำหนักเฉลี่ยของหนูทุกกลุ่มที่ค่าเฉลี่ยประมาณ 25-30 กรัม (ตารางที่ 13 และรูปที่ 27) นั้นมีการเปลี่ยนแปลงไม่มาก หรือเกือบไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญตลอดการทดลองนาน 60 วันไม่ว่าการทดลองในสภาวะใดๆก็ตาม

จึงพอสรุปได้ว่า ในการทดลองนี้ไม่มีผลต่อการเจริญเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหนูในกลุ่มทดลองทั้งหมดแต่อย่างไร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

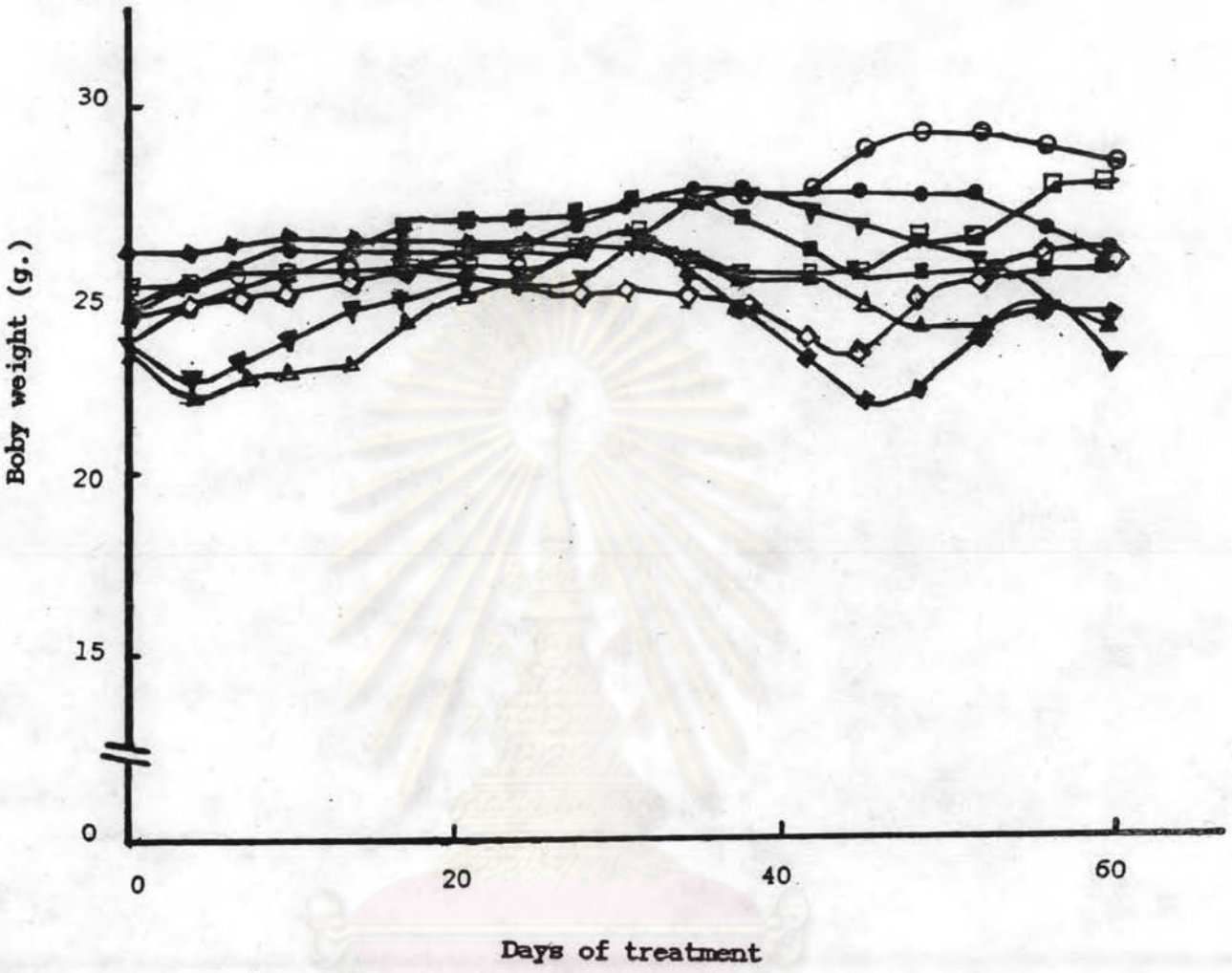
ตารางที่ 13 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหนูไร้ขนที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งปากมดลูกในกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว และกลุ่มทดลองที่ฉีดสารสกัดจากเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)*

| ระยะเวลา (วัน) | น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)* | | | | น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)* | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | สารสกัดหยาบจากดอกเห็ด | | สารสกัดหยาบจากเส้นใย | โพลีแซกคาไรด์จากดอกเห็ด | | โพลีแซกคาไรด์จากเส้นใย | |
| | กลุ่มควบคุม | 0.5ก./กก. | 2.0ก./กก. | 2.0ก./กก. | นิดที่ 1 | นิดที่ 2 | นิดที่ 1 | นิดที่ 2 |
| 0 | 23.56±1.45 | 24.69±2.33 | 23.25±2.90 | 23.37±1.57 | 24.31±2.12 | 25.12±3.01 | 24.25±1.77 | 25.94±2.43 |
| 4 | 24.44±1.92 | 25.06±2.66 | 21.37±2.98 | 21.94±1.86 | 25.12±1.96 | 24.87±3.14 | 24.56±1.96 | 26.00±2.84 |
| 7 | 25.12±2.10 | 25.69±2.66 | 22.75±3.14 | 23.06±2.01 | 25.25±2.19 | 25.62±3.19 | 24.81±1.93 | 26.06±3.05 |
| 10 | 25.37±2.61 | 26.19±2.62 | 22.62±2.82 | 23.62±1.50 | 25.62±2.85 | 26.00±3.02 | 24.81±2.05 | 26.50±2.74 |
| 14 | 25.87±2.84 | 25.87±2.69 | 22.75±2.70 | 24.62±2.13 | 25.37±2.52 | 26.00±3.17 | 25.31±2.02 | 26.25±2.66 |
| 17 | 26.06±2.76 | 25.31±2.49 | 24.25±2.20 | 24.44±2.14 | 25.69±2.43 | 26.94±3.76 | 25.50±1.69 | 26.25±2.49 |
| 21 | 26.00±2.81 | 25.81±2.30 | 24.87±2.46 | 25.37±2.06 | 25.87±2.10 | 26.87±3.68 | 25.37±1.79 | 26.19±2.56 |
| 24 | 26.19±2.97 | 25.31±2.49 | 25.00±2.64 | 24.94±2.76 | 26.37±1.60 | 26.87±3.44 | 24.81±2.51 | 25.75±1.67 |
| 28 | 26.69±3.23 | 26.00±2.67 | 26.19±2.95 | 25.00±2.83 | 25.94±1.52 | 26.94±3.43 | 24.62±3.11 | 25.81±2.05 |
| 31 | 27.25±4.14 | 25.87±3.18 | 26.62±3.70 | 26.12±3.03 | 26.25±2.55 | 27.50±3.42 | 25.00±3.85 | 26.25±2.49 |
| 35 | 27.69±5.19 | 27.69±2.91 | 25.69±4.16 | 27.25±2.87 | 25.37±3.16 | 27.31±3.03 | 24.56±4.29 | 25.44±2.87 |
| 38 | 27.50±5.57 | 27.37±3.54 | 25.25±4.10 | 27.62±3.42 | 25.00±3.51 | 26.75±2.25 | 24.62±4.41 | 24.19±3.46 |
| 42 | 27.25±5.67 | 27.50±3.74 | 25.43±3.56 | 27.06±3.82 | 25.25±4.43 | 25.75±2.37 | 23.31±3.53 | 22.94±2.68 |
| 45 | 28.86±2.97 | 27.50±3.74 | 24.28±4.00 | 26.44±3.56 | 25.12±5.57 | 24.94±2.68 | 22.75±3.69 | 21.62±3.50 |
| 49 | 29.07±2.96 | 27.44±4.05 | 23.71±4.62 | 26.12±2.03 | 26.43±4.79 | 25.31±3.45 | 24.78±2.74 | 21.75±4.68 |
| 52 | 29.07±3.86 | 27.37±4.03 | 23.47±4.92 | 25.56±1.72 | 25.78±5.31 | 25.25±4.53 | 25.14±3.02 | 24.17±3.31 |
| 56 | 28.64±4.92 | 26.25±4.13 | 24.92±3.17 | 24.87±2.59 | 27.75±2.52 | 26.00±4.00 | 25.43±3.40 | 24.25±3.31 |
| 60 | 28.28±5.24 | 26.00±5.42 | 23.75±3.42 | 23.00±3.28 | 27.58±3.04 | 25.93±4.71 | 25.36±5.02 | 24.17±2.86 |

* เฉลี่ยจากหนูจำนวน 8 ตัว/กลุ่ม

รูปที่ 26 เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักตัวหนูไร้ขนที่ได้รับการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งในกลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มล./25 กรัม น้ำหนักตัว และกลุ่มทดลองที่ฉีดสารสกัดจากเห็ดหมื่นปี *(G. lucidum)*

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย




○ = กลุ่มควบคุมที่ฉีดน้ำกลั่น 0.5 มล./25 กรัมน้ำหนักตัว

● = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 0.5 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

△ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ด 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

▼ = กลุ่มที่ฉีดสารสกัดหยาบจากเส้นใยเห็ด 2.0 กรัม/กก.น้ำหนักตัว

□ = กลุ่มที่ฉีดสารโพลิแซกคาไรด์นิดที่ 1 จากดอกเห็ด 100 มก./กก.น้ำหนักตัว

◆ = กลุ่มที่ฉีดสารโพลิแซกคาไรด์นิดที่ 2 จากดอกเห็ด 100 มก./กก.น้ำหนักตัว

■ = กลุ่มที่ฉีดสารโพลิแซกคาไรด์นิดที่ 1 จากเส้นใยเห็ด 100 มก./กก.น้ำหนักตัว

◆ = กลุ่มที่ฉีดสารโพลิแซกคาไรด์นิดที่ 2 จากเส้นใยเห็ด 100 มก./กก.น้ำหนักตัว

3.5 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดจากเห็ดหิ่นปี

เมื่อทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบที่ได้จากดอกเห็ด ซึ่งให้ผลการทดลอง (ตารางที่ 14 และรูปที่ 27) ซึ่งได้ทำการเปรียบเทียบความเป็นพิษด้วยวิธีการฉีดเข้าที่ช่องท้องและการป้อนทางปากจะเห็นได้ว่าปริมาณการตายของหนูเมื่อได้รับสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดโดยวิธีการฉีดสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดเพียงครั้งเดียว (ดูผลภายใน 24 ชั่วโมง) พบว่ามีค่า $LD_{50}$ เท่ากับ 6,000 มก./กก.น้ำหนักตัว ในขณะที่การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดโดยการให้สารสกัดหยาบด้วยวิธีการป้อนทางปาก ในปริมาณสูงถึง 5 และ 10 กรัม/กก.น้ำหนักตัว พบว่าหนูสามารถทนได้ไม่มีการตาย แต่บางครั้งการป้อนสารสกัดหยาบของดอกเห็ดในปริมาณสูงจะมีผลทำให้เกิดอาการข้างเคียงที่น่าสนใจคือ หนูแสดงอาการท้องเสีย ซึ่งน่าจะเป็นผลจากฤทธิ์ของสารสกัดหยาบเอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหมื่นปี (*G. lucidum*)

ตารางที่ 14.1 โดยการฉีดเข้าที่ช่องท้อง

| ปริมาณสารที่ให้ (มก./ก.ก.) | เพศ | จำนวนที่ตาย |
|---|---|---|
| 2,000 | ♂ | 0/5 |
| | ♀ | 0/5 |
| 4,000 | ♂ | 1/5 |
| | ♀ | 0/5 |
| 6,000 | ♂ | 3/5 |
| | ♀ | 2/5 |
| 8,000 | ♂ | 5/5 |
| | ♀ | 5/5 |

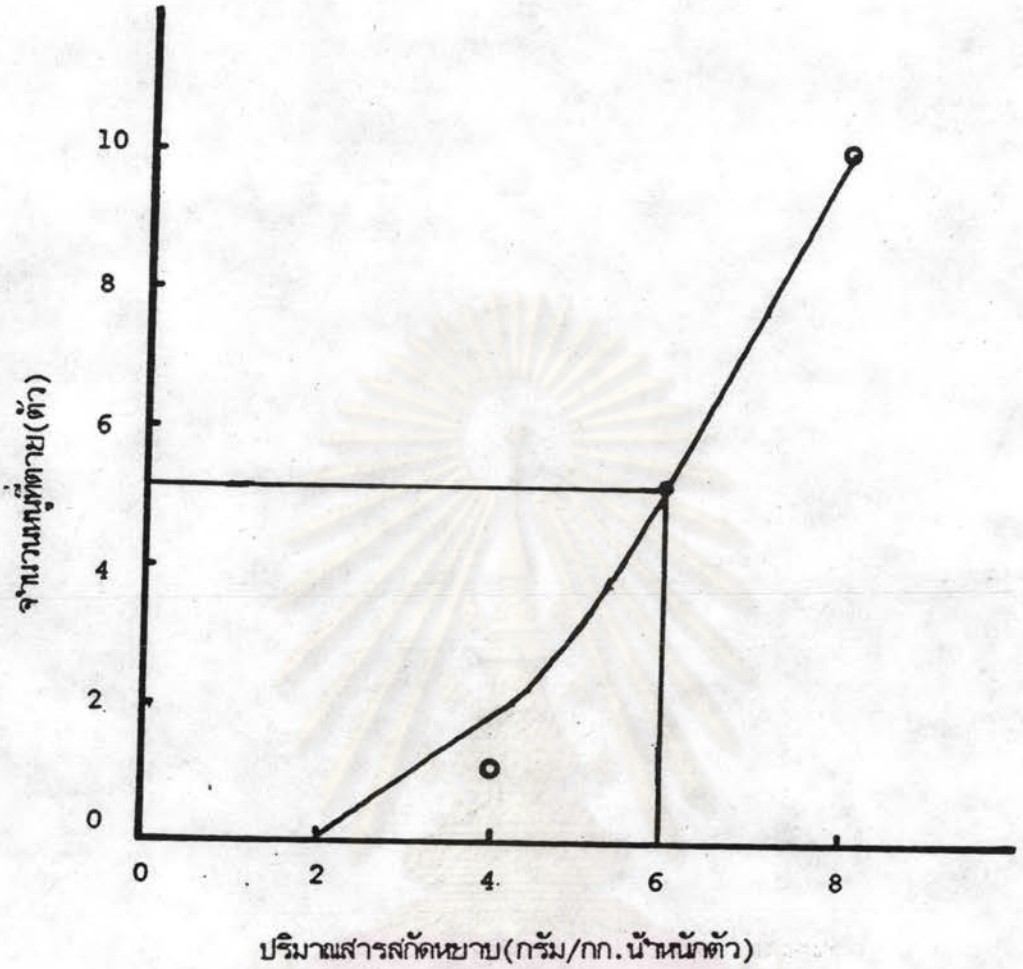
$LD_{50}$ = 6,000 มก./ก.ก.

ตารางที่ 14.2 โดยการป้อน (กิน)

| ปริมาณสารที่ให้ (มก./ก.ก.) | เพศ | จำนวนที่ตาย |
|---|---|---|
| 5,000 | ♂ | 0/5 |
| | ♀ | 0/5 |
| 10,000 | ♂ | 0/5 |
| | ♀ | 0/5 |

$LD_{50}$ > 10,000 มก./ก.ก.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



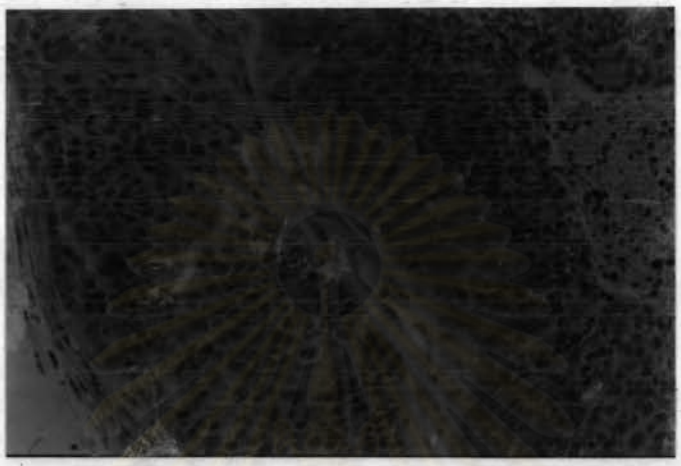

รูปที่ 27 ความเป็นพิษของสารสกัดหยาบจากดอกเห็ดหลินจือ (*G. lucidum*) ที่สกัดด้วยน้ำและตกตะกอนด้วยเอธานอล เมื่อฉีดให้หนูในปริมาณต่างๆกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.6 การตรวจสอบเนื้อเยื่อทาง histopathology

เมื่อทำการตรวจสอบเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆของหนู เช่น ตับ ไต ปอด และ ม้าม หลังจากที่หนูได้รับการปลูกถ่ายเซลล์มะเร็งนาน 90-100 วัน นอกจากนี้ยังได้ทำการตรวจสอบลักษณะของก้อนเนื้อเยื่อเซลล์มะเร็ง เพื่อเปรียบเทียบถึงลักษณะและการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มเซลล์ดังกล่าวหลังจากได้รับการปลูกถ่าย จาก donor ผลการทดลองพบว่าลักษณะเซลล์มะเร็งที่ได้จากหนูหลังสิ้นสุดการทดลองยังคงมีลักษณะเช่นเดียวกันกับหนูที่เป็น donor (รูปที่ 28) คือมีลักษณะของเซลล์มะเร็งเป็นแบบ squamous cell carcinoma (ลักษณะเดียวกันกับที่พบในคนไข้) และตรวจไม่พบการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งไปยังอวัยวะภายใน เช่น ตับ ปอด (รูปที่ 29) ม้าม และไต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



(A)

(B)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 28 ลักษณะเซลล์มะเร็งปากมดลูกแบบ Squamous cell carcinoma ที่ได้จากหนูไร้ขน (กำลังขยาย 800 เท่า)

A = จากหนู Donor

B = จากหนูไร้ขนที่ถูกปลูกถ่ายเนื้อเยื่อมะเร็ง

(A)

(B)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 29 ลักษณะเซลล์ของอวัยวะภายในของหนูไร้ขนที่ตรวจไม่พบการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งปากมดลูกหลังจากทำการปลูกถ่ายเป็นเวลา 3 เดือน (กำลังขยาย 800 เท่า)

A = เซลล์ตับ ที่พบอาการ blood congestion

B = เซลล์ปอด ที่พบอาการ hypersemia